

11237

186  
26j



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

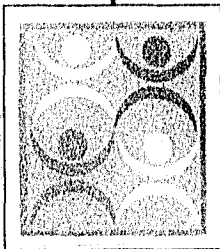
HOSPITAL DEL NIÑO "DR. RODOLFO NIETO PADRON"  
INSTITUCION DE SERVICIO MEDICO, ENSEÑANZA E INVESTIGACION

**Inhibidores en Hemofilia A y B**

**Tesis de Posgrado**

Que para obtener el título de especialista en  
Pediatria Médica  
Presento

Dra. Candelaria Vázquez Sandoval



VILLAHERMOSA, TABASCO

MARZO 1996

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

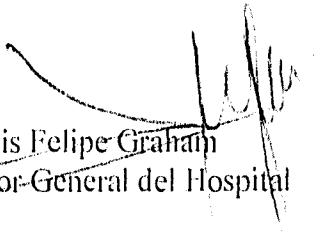
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

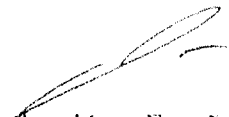
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

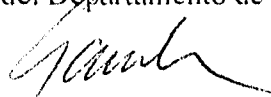
## INHIBIDORES EN HEMOFILIA A Y B

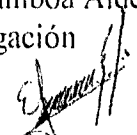
Dra. Candelaria Vázquez Sandoval.  
Hospital del Niño "Dr. Rodolfo Nieto Padrón"  
Villahermosa, Tabasco, México.

Hospital del Niño "Dr. Rodolfo Nieto Padrón"  
Villahermosa, Tabasco, México.

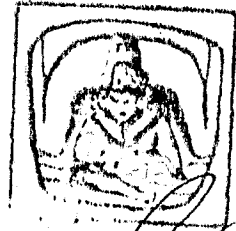
  
Dr. Luis Felipe Graham  
Director-General del Hospital

  
Dr. David Bulnes Mendizabal  
Jefe del Departamento de Investigación y Enseñanza

  
Dr. Roberto Gamboa Aldeco  
Jefe de Investigación

  
Dr. Efraín Zurita Zarracino  
Pediatra Hematólogo  
Asesor de Tesis

HOSPITAL DEL NIÑO  
DEPARTAMENTO DE ENFERMERIA



No. Cr. G. Mendiz M. No. 2332  
C. P. 86100 Villahermosa, Tab.

## **Dedicatoria**

A dios por brindarme la oportunidad de lograr mis objetivos.

A mis queridos padres: Roberto y Consuelo por darme el Don de la vida.

A mis hermanos: Santiago, Salvador, Roberto y Enrique por su confianza y apoyo incondicional.

A mis amigos:  
Juanita, Jorge, Lucy y Paco, por su hospitalidad que me brindaron y su apoyo y confianza, infinitamente gracias.

A una nueva esperanza que nace dentro de mi para lograr la realización como ser humano y profesionista.

A Eduardo por sus palabras de apoyo y por su comprensión.

Dedico este trabajo a todos los niños del Estado de Tabasco que fueron durante mi entrenamiento los personajes más importantes para mi preparación como Pediatra.

## Agradecimientos:

Asesor de Tesis

Dr. Efraín Zurita Zarracino

Jefe de Investigación

Dr. Roberto Gamboa Aldeco

Mi más sincero agradecimiento por dedicar parte de su valioso tiempo y conocimientos en el asesoramiento de esta tesis.

A mi amiga. -

Beatriz Flores, por su amistad y por su apoyo incondicional, (mil gracias).

## ÍNDICE

1.- INTRODUCCIÓN.....	1
2.- HISTORIA.....	10
3.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	13
4.- HIPÓTESIS.....	13
5.- OBJETIVOS.....	14
6.- JUSTIFICACIÓN.....	14
7.- MATERIAL Y MÉTODOS.....	15
8.- RESULTADOS.....	16
9.- DISCUSIÓN.....	18
10.- CONCLUSIONES.....	20
11.- BIBLIOGRAFÍA.....	22
12.- APENDICE 1 (GRAFICAS).....	24



## INTRODUCCION

Existen defectos de prácticamente todos los factores de la coagulación, (1, 5) sin embargo los defectos más conocidos son los de los factores VIII (HEMOFILIA A O CLASICA) y IX (HEMOFILIA B ENFERMEDAD DE CHRISTMAS). La forma más frecuente es la hemofilia A, que aparece como un trastorno hereditario ligado a X, con una frecuencia de 1 de cada 10 000 varones, la severidad de la hemofilia es paralela al grado de deficiencia de los factores. La cual se clasifica de la siguiente manera: Mayor del 5% leves, de 1 a 5 % moderados y menos del 1 % severos.

En el paciente hemofílico cobra interés un tratamiento integral que comprende la prevención o tratamiento de los episodios hemorrágicos (mediante terapia substitutiva con factores), la prevención de disfunciones físicas y atrofiás musculares (mediante terapia rehabilitadora) una integración social, tanto en un sentido ocupacional como educativo y la consecución de unas expectativas de vida normal, teniendo en cuenta que al final del siglo pasado solamente un 10% de todos los pacientes hemofílicos sobrevivían por encima de los 20 años (6)

Una de las mayores complicaciones de la terapia substitutiva en estos pacientes es la transmisión de enfermedades víricas. La investigación centrada sobre el uso de los factores de coagulación para el tratamiento de los pacientes hemofílicos comenzó en los 50 y desde entonces, la evolución en este campo ha permitido la obtención del factor VIII de alta pureza.(1,8)

La otra gran complicación de estos pacientes es el desarrollo de INHIBIDORES (aloanticuerpos) que neutralizan la actividad de los factores transfundidos. No parece existir ninguna relación con la formación de los inhibidores y el tipo de factor utilizado. No se conocen las causas por las que solo algunos pacientes hemofílicos que reciben tratamiento substitutivo desarrollan inhibidores.(14)

Las teorías más aceptadas son las siguientes :

- I.- Al ser transfundidos reconocieran al factor como extraño.
- II.- Susceptibilidad genética.
- III.- Respuesta inmune

#### IV.- Pérdida de la tolerancia

##### **DEFINICION :**

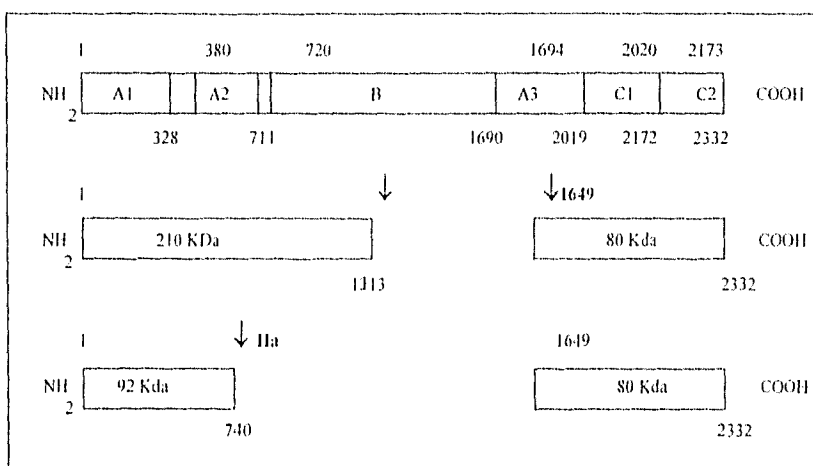
El factor VIII de la coagulación es la proteína cuyo déficit causa la hemofilia A en el hombre (11) .Circula en el plasma formando complejos macromoleculares no covalentes con el factor Von Willebrand, además de actuar como transportador del factor VIII, posee un efecto protector sobre el mismo.

Uno de los mayores conocidos se localiza en el extremo del brazo mayor del cromosoma X (región Xq 28 ) y representa el 0.1% del total de dicho cromosoma. Contiene 26 exones, uno de ellos con 3.1Kb, se encuentran también entre los de mayor tamaño conocido (8) .Dentro de los intrones del factor VIII se ha descrito la presencia de otros genes distintos. La transcripción del gen del factor VIII puede durar mas de tres horas a un ritmo de 15 nucleótidos por segundo incorporados. Su ARN mensajero se ha encontrado en hígado, placenta riñón, bazo, ganglios linfáticos y músculos pero el antígeno del factor VIII solo se ha localizado, intracelularmente, en hepatocito (6.8).Tras la síntesis ,el factor VIII es sujeto a procesos intracelulares de maduración, que implican la liberación de un péptido señal y la sulfatación y glicosilación de determinados residuos de su secuencia .El peso molecular esperado del factor VIII ,sin tener en cuenta las modificaciones post-traduccionales, es de 264763 Da, para una longitud de 2332aa . Su liberación al plasma podría estar regulada hormonalmente, dados los incrementos observados en situaciones como el estrés o tras la administración de análogos hormonales como el DDAVP(11).

Se define la unidad de factor VIII como la cantidad presente en un mililitro de plasma humano normal, aproximadamente 100 ng. Cuando se analiza mediante electroforesis en gel de poliacrilamida con SDS el factor VIII humano purificado presenta dos bandas principales de peso molecular aproximadamente 80 KDa (cadena ligera) y 92 KDa (cadena pesada) así como varias bandas de peso molecular superior, hasta 210 KDa que son formas precursoras de la cadena pesada. El factor VIII es, por otro tanto, un heterodímero cuyas cadenas

permanecen unidas por enlace a través de ion o iones divalentes. El peso molecular se acerca a los 300 KDa, lo que concuerda con el valor esperado de 264763 Da , teniendo en cuenta las modificaciones post-traduccionales (8,11,1)

FIGURA 1



Cuando se trata el FVIII purificado con trombina, el patrón de bandas cambia (fig. 2), observándose una banda de 72KDa, derivada de la cadena ligera y dos bandas de 54 KDa y 44 KDa, producidas por escisión de la cadena pesada (5). Estas bandas corresponden esencialmente a la forma activa del FVIII (FVIIIa), que es un heterodímero. Esta forma permanece unida mediante los enlaces por ion o iones divalentes, que se dan entre el fragmento 54 Da y el 72KDa, así como por enlaces electrostáticos, que se producen entre los fragmentos de 54 y 44 KDa.

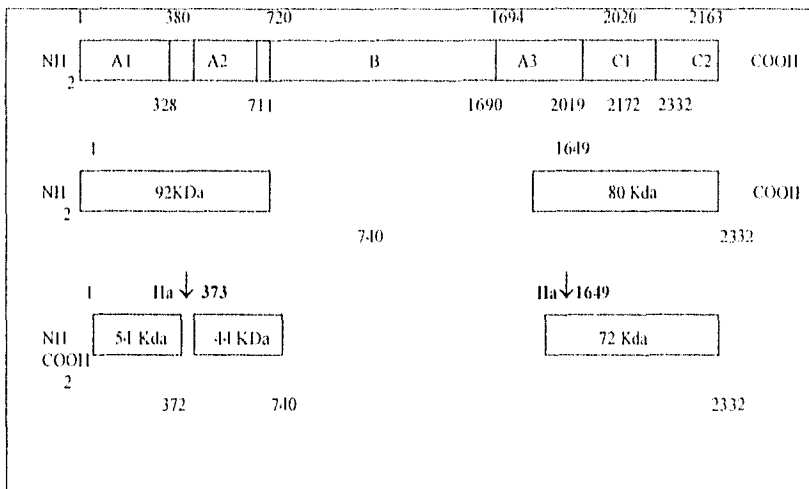
El factor VIII posee una estructura de dominios bien definida, en orden A1-A2-B-A3-C1-C2..(6,15). Los dominios A presentan en torno de un 30 a 40% de homología con los correspondientes dominios A del factor V (FV) y de la ceruloplasmina. El dominio B, donde ocurre la mayor parte de la glicosilación post-traducciona, está ausente en la ceruloplasmina y sólo presenta un 14% de homología con el factor V. Los dominios C, igualmente ausentes en la

ceruloplasmina, muestran un 40% de homología con los correspondientes dominios C del FV y con algunas zonas de proteínas que interaccionan con lípidos y fosfolípidos. La homología entre la ceruloplasmina, el FV y el factor VIII sugiere la posibilidad de que pertenezcan a una misma familia de proteínas que han evolucionado por fenómenos de duplicación (dominios de A y C) e inserción genética (dominio B)

El factor VIII, en su forma de 92/72 Kda (1,8,15), presenta dos zonas en su secuencia que están ausentes en el factor V. Ambas regiones son ricas en residuos ácidos. Una de ellas está situada entre los dominios A1 y A2, en la cadena pesada (Residuos 329-379). La región ácida de la cadena forma parte del fragmento de 54KDa del FVIII y parece estar implicada en las interacciones electrostáticas que se dan entre los fragmentos 54 y 44 KDa, dentro del FVIII: La otra región ácida se encuentra al final del dominio B, constituyendo el extremo N-terminal de la cadena ligera (residuos 1649-1689). Además existe una zona de baja homología entre ambos factores, al principio del dominio B (residuos 712-740). En estas tres regiones se sitúan todos los residuos de tirosina sulfatada presente en el factor VIII (Posiciones 346,718,719,723,1664 y 1680). Las tirosinas sulfatadas pueden estar implicadas en las interacciones entre proteínas.

Se conocen los lugares de acción proteolítica de la trombina (2,8), el factor X activado (FXa), el factor IX activado (FIXa) y la proteína C activada (PCA) sobre el factor VIII. Tanto la trombina como el FXa y el FIXa pueden dar lugar a la activación del FVIII en determinadas condiciones, por acción sobre determinados lugares de su secuencia esencialmente los residuos 372,740 y 1689.

FIGURA 2

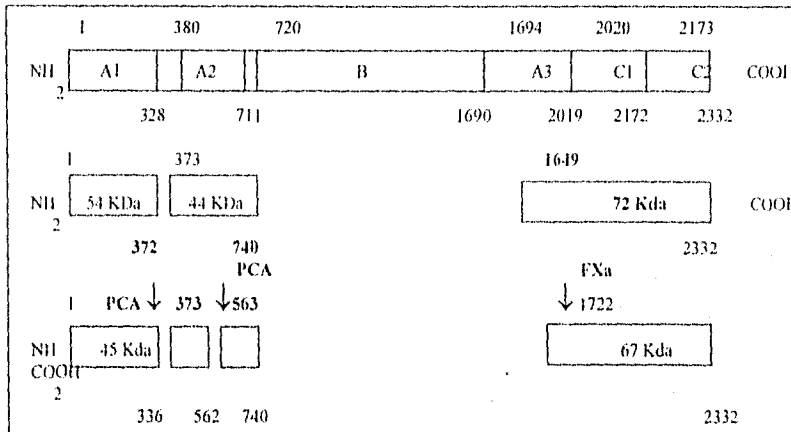


Durante la activación (Fig. 2), (6) las formas de cadena pesada de mayor tamaño molecular (hasta 210 KDa.), son degradadas a la forma de 92 KDa (residuos 1 a 720) esta forma de cadena pesada de 92 KDa es el precursor inmediato de los fragmentos de 54 y 44 KDa (residuos 1 a 373 a 740 respectivamente), que se originan por corte tras el residuo 372. La mayor parte del dominio de B que se conservan en las cadenas de 92 y 80 KDa, corresponden a la zona con baja homología con el factor V (cadena de 92 KDa, extremo C-terminal, residuos 712-740) y a la región ácida de la cadena ligera, ausente en el FV (residuos 1649-1689 extremo N-terminal de la cadena ligera). Ambas zonas contienen 5 de los 6 residuos de tirosina sulfatada presentes en el factor VIII implica un corte proteolítico tras el residuo 1689, por acción de 3I cual se pierde la región ácida de la cadena ligera. El proceso de activación va asociado a la disociación del Fv W.

El efecto del FVIIIa, (9,13,14) dentro del complejo activador del FVIII es actuar como cofactor del FIXa en la actividad del FX a Fxa. La eficiencia de la reacción en presencia de FVIIIa fosfolípido y calcio es del orden de 100 millones de veces

superior a la observada cuando sólo están presente FIXa y FX su acción, se debe esencialmente, a un aumento de la constante catalítica de la reacción, probablemente afectando al sitio activo del FIXa. El parecido entre el FVIII y FV también se da en estos aspectos funcionales. Ambos son cofactores de una enzima serínproteasa vitamina K dependiente. Los dos complejos activadores (el del FX y el de la protrombina) necesitan fosfolípidos y calcio.

FIGURA 3



El factor IXa, el FXa y la PCA pueden dar lugar a la inactivación del FVIII (fig. 3) por acción sobre los residuos 336,562 (solo la PCA y preferentemente sobre el FVIIIa) y 1721 ( solo el Fxa) (5,6). Se ha encontrado otro lugar de acción proteolítica del factor Ixa (residuo 1719), que aparentemente no produce enfermedad subyacente demostrable) o en aquellos que presentan ciertas patologías, incluyendo aquellas que presentan desórdenes inmunológicos, sin que aún hoy exista una base al respecto suficientemente convincente: la mayor parte de los inhibidores son de tipo IgG ,aunque se han descrito algunos IgM. Dentro de los IgG, la subclase IgG4 es la predominante, siendo unos pocos IgG3. Contienen cadenas kappa y lambda o ambas, siendo probablemente de origen policlinal

restringido u oligoclonal. El curso clínico de los inhibidores en sujetos sin enfermedad subyacente demostrable es muy variable, con remisiones en algunos pacientes y persistencia del anticuerpo en otros(5,11).

El desarrollo de inhibidores del FVIII continúa siendo una de las complicaciones mas serias del tratamiento de los pacientes con hemofilia A. Todavía se desconoce la causa por la cual sólo algunos de estos pacientes presentan esta complicación. Se consideran factores clave para su desarrollo: La severidad de la enfermedad, edad de comienzo, el número de exposiciones al factor VIII, así mismo se sospechaba la influencia del tipo de concentrado utilizado y la repercusión en la formación de inhibidores(15).

**TIPOS DE INHIBIDORES:**(5,17) Se han distinguido varios tipos de inhibidores, el tipo A que sería el que tendría repercusión clínica y persistencia en el paciente. El tipo B correspondería a aquellos que ocurren transitoriamente o que no tienen una gran repercusión clínica. También se habla de inhibidores de alta o baja respuesta (estableciéndose arbitrariamente un nivel superior o inferior a las 5 o 10 unidades Bethesda). La cantidad de inhibidores frente a los factores VIII y IX fue determinada según los estudios de la Dra. Kasper y Cols (9), en UNIDADES BETHESDA ( una unidad de inhibidor se define como la actividad en 1 ml. de plasma del paciente que al mezclarlo con un volumen igual de plasma normal durante dos horas a 37°C reduce la concentración del factor VIII y IX a la mitad)(1,8).

#### **ESTRUCTURA MOLECULAR DEL FACTOR IX.**

Se trata de una glucoproteína, vitamina K dependiente (contiene 8 a 10 residuos de ácido g carboxi-glutámico cerca de la porción aminoterminal) caracterizada por un peso molecular (calculado por equilibrio de sedimentación) de 57000 daltons (5,6); calculado por electroforesis de gel de poliacrilamida existen variaciones entre 55000-70000 daltons (6).

El factor IX circula como una cadena simple polipeptídica de 415 aminoácidos ,para desempeñar su función en la coagulación el factor IX se debe de convertir

en un serin-proteasa activa (Factor IXa). El factor IX es activado por "cleavage" de la unión de dos péptidos internos (arginina 145-alanina 146 y arginina 148-valina 181). La proteólisis de Arg145-Ala 146 es más rápida de que la de Arg 180-Val-181: La proteólisis de estas uniones por factor IXa o por FVIIa complejo tisular da lugar al factor IXa, a través de un producto intermedio inactivo denominado FIXa (fig.1)(1,13)

El complejo intermedio se compone de 18 Kd en posición aminoterminal, y una pesada de 38 Kd situada en posición carboxiterminal, que se mantienen unidas por uno ó varios enlaces de hidrógeno. Existe otro mecanismo de inactivación del FVIIIa de gran importancia, que es la disociación del fragmento de 44 KDa a pH fisiológico. El heterotrímero de 54/44/72 KDa que constituye el factor VIIIa pierde el fragmento de 44 KDa rápidamente a pH fisiológico. Dicha disociación es menos rápida en presencia de FIXa y también ocurre más despacio en el FVIII porcino, lo que justificaría una mayor actividad específica del FVIII en esta especie.

También se han identificado las áreas responsables de la interacción con el FvW fosfolípidos con la PCA(1,5,8). El área responsable de la interacción con el FvW coincide con la región ácida de la cadena ligera del FVIII y se sabe que al menos, uno de los dos residuos de tirosina sulfatada presentes (Posición 1680) es imprescindible para que se de dicha interacción. La pérdida de esta región durante la activación del FVIII concuerda muy bien con la disociación observada entre el FvW y el FVIIIa.

La zona de interacción con fosfolípidos es la que presenta homología con proteínas que interactúan con lípidos y fosfolípidos y corresponde al dominio C2. El lugar de interacción del FVIII con PCA(5,6,8) (dominio A3, residuos 2009-2018) presenta un alto grado de homología en secuencia de aminoácidos y está en la posición relativa, dentro del dominio A3, residuos 2009-2018) presenta un alto grado de homología en secuencia de aminoácidos y está en la misma posición relativa, dentro del dominio A3 del FV.



El estudio de los lugares de interacción de diferentes anticuerpos que inhiben la actividad del FVIII ha permitido identificar lugares de la proteína que poseen gran importancia para el mantenimiento de su función. Los anticuerpos que se dirigen contra la zona central del dominio B no poseen actividad inhibitoria, lo que concuerda muy bien con que durante el proceso de activación, la mayor parte del mismo se pierda. Igualmente se ha conseguido restablecer la actividad coagulante a partir de las cadenas de 92 KDa del factor VIII previamente separadas, en la producción de moléculas híbridas de FVIIIa humano y porcino, siempre a partir de fragmentos aislados (54,44 y 72 KDa) en los que la mayor parte del dominio B está ausente. Cabe destacar que el dominio B deja dos importantes "herencias" al factor VIII, como son la región ácida de la cadena ligera, responsables de la interacción con el FvW y la región C-terminal de la cadena de 92 KDa(residuo 712-740).

Los anticuerpos que se dirigen contra otra parte de la proteína (6,14), como la región ácida de la cadena pesada (posiciones 338-362), el fragmento de 44 KDa (posiciones 379-538 y 701-740) o la región ácida de la cadena ligera (responsable de la unión del FvW) o la zona de unión a fosfolípidos (dominio C2) si presentan capacidad inhibitoria (fig.4). Los inhibidores caracterizados en los pacientes hemofílicos y en otros casos, se dirigen principalmente contra la zona 379-538 y contra la zona de unión a fosfolípidos(10,11).

Se desconocen los lugares exactos de la interacción del FVIII con los factores IXa y X, si bien por la homología existente con el FV, cabe esperar que ambas cadenas estén integradas en la interacción. (14,15)

Tras el análisis de las homologías existentes entre las funciones y las secuencias de los factores VII y V, llama la atención que propiedades importantes del FVIII, ausentes en el factor V, residan en zonas de la secuencia, que también están ausentes en el factor V residual: Tal es el caso de la región ácida de la cadena ligera, responsable de la unión al FvW, función ausente en el FV. Igualmente la región ácida de la cadena pesada parece estar implicada en la separación de la cadena pesada del FVIII en dos fragmentos durante el proceso de activación y en

la retención del fragmento de 44 KDa dentro de la estructura del FVIII. En el caso del FV, dicha región ácida no existe, lo que concuerda con el hecho de que la cadena pesada del FV no se divide durante el proceso de activación. Igualmente, llama la atención que zonas homólogas de los factores VIII y V presentan funciones homólogas (unión a la PCA y al fosfolípido)

### **INHIBIDORES DEL FACTOR VIII**

**EPIDEMIOLOGIA:** Los inhibidores del FVIII son anticuerpos que neutralizan la actividad procoagulante del FVIII. Pueden aparecer como aloanticuerpos en pacientes con hemofilia A en respuesta a la infusión de concentrados de FVIII (6,8). También pueden aparecer espontáneamente como autoanticuerpos ya sea en individuos normales (es decir, sin puentes bisulfuro (indicado en la figura)). Durante la segunda fase, se desdobra un péptido de 11000 daltons de la cadena pesada, produciendo una molécula de dos cadenas de 46 Kd (enzima activa). En contraste con otros pasos de la coagulación en los que intervienen proteasas vitamina K dependientes, no se necesita un cofactor para la activación del factor IX. El factor IX es inactivado lentamente por antitrombina III (en presencia de ), pero es relativamente estable en presencia de bajos niveles de tripsina.

En la proteína hemofílica, el residuo 145 es histidina, lo que se asocia con un fallo en ruptura y da lugar a hemofilia moderada. La sustitución de arginina por glicina en 180 causa una hemofilia severa, debido a que sólo se produce el factor inactivado IXa(13)

### **HISTORIA.**

Posiblemente ante la primera descripción escrita de la enfermedad de la hemofilia data del talmud judío(4), donde ya se señala su raíz hereditaria. En estos textos sagrados se concedía dispensa de circuncisión al tercer hijo varón de madre cuyos dos primeros hijos hubieran fallecido por hemorragia durante el ritual de la

circuncisión: Fue bautizada como hemofilia en 1828 por un estudiante alemán Hopff, aunque ya había sido descrita por Otto en 1803, observándose que solo aparecía en hombres. En 1972 se reconoció el factor VIII como una proteína individualizada (FVIII:C) que bajo ciertas condiciones podría ser disociada del factor von Willebran (13).

La primera descripción fisiopatológica de inhibidores en hemofilia realizada por LAURENCE y CRADDOCK en 1947(1), quienes señalaban por primera vez el mecanismo de desarrollo y acción de un anticoagulante observado en dos casos, desde entonces y a pesar de las mejoras en la eficacia del tratamiento de la hemorragia el desarrollo de inhibidores del factor VIII continua siendo una de las complicaciones del tratamiento de los pacientes con hemofilia se desconoce la causa por la cual solo algunos de los pacientes presentan esta complicación. Se consideran factores claves para su desarrollo la severidad de la hemofilia, edad del comienzo, el número de exposiciones al factor VIII y el tipo de concentrado.

En 1988 (1,18) en Holanda se utilizaba para el tratamiento de la hemofilia crioprecipitados y en esta fecha THE NETHERLANDS RED CROOS BLOOD TRANSFUSION SERVICE introduce un nuevo concentrado el factor VIII CPS, por ello elaborado basado en técnica de absorción en sílice porosa posteriormente y a partir de junio de 1991 se utilizo la pasteurización como procedimiento de inactivación viral este tipo de concentrado se extiende a Bélgica distintos grupos de ambos paises vienen comunicando reiteradamente la aparición de una incidencia de inhibidores muy superior a la observada previamente a la introducción de este tipo de preparado además la proporción de inhibidores de tipo A con respecto a los de tipo B se invierte a favor de los primeros desde la introducción del factor VIII CPS.

En 1973(18) se emplea el método OXFORD por RIZZO y BIGEN para dosificar los inhibidores se basa en que la reacción del factor VIII y los inhibidores esta influenciado por la temperatura, el rango optimo de la reacción es a 37 grados centígrados por un tiempo de una a dos horas.

En 1975 (1,15,18) se emplea el método BETHESDA desarrollado por un grupo de 25 hematólogos en Estados Unidos que consiste en un volumen de plasma normal más plasma del paciente incubado por dos horas a 37 grados y se define un inhibidor al anticuerpo que destruye 0.5 unidades de factor VIII.

En 1980 se describe el método modificado para estudio de inhibidores por la DRA CARPER Y COLS (9,18) mencionado anteriormente.

#### ALTERNATIVAS EN EL TRATAMIENTO.

Los pacientes hemofílicos A ó B que desarrollan anticuerpos frente a los factores transfundidos no presentan una mayor frecuencia de hemorragias que los pacientes hemofílicos no inhibidores, el principal problema en estos pacientes es el control de los episodios hemorrágicos como es hemartrosis, hemorragia subaracnoidea, extracciones dentales, heridas incisas, hemoperitoneo, etc. porque los anticuerpos que se han desarrollado neutralizan la actividad de los factores transfundidos, por lo tanto ante una hemorragia caben dos posibilidades :

1.- Elevar el nivel del factor VIII, mediante infusión del factor VIII humano o porcino y si el título de inhibidor fuese alto se procede a maniobras para disminuir el título como la exanguineo transfusión. 2.- Infusión de un material hemostático que punea (BYPASSING) la necesidad del factor VIII concentrados del complejo de protrombina.

Se emplea también el tratamiento conservador en casos de episodios hemorrágicos leves, como aplicación de analgésicos, inmovilización y aplicación de férula, aplicación de envolturas frías, hemostáticos tópicos, transfusión de concentrados de hemafíes o hemafíes lavados para corregir la anemia.

La utilización de una terapéutica inmunosupresora surge en un intento de bloquear la respuesta amnésica de erradicar el anticuerpo o ambas cosas. Se ha obtenido resultados satisfactorios con infusión de ciclofosfamida y terapéutica substitutiva concomitante del factor VIII.

Se utiliza también tolerancia inmunológica que se define como la eliminación de inhibidores, la normalización de la vida media del factor VIII, infundido y la ausencia de respuesta amnésica, los programas de inmunotolerancia son variados, modelo BONN desarrollado por BRACKMAN (12) para la supresión de anticuerpos frente al factor VIII durante un período de tiempo de uno a dos años.

En 1988 NELSON Y COLS (15), publican un nuevo tratamiento modelo MALMO, se basa en administración de alta dosis de IgG intravenosa en combinación con ciclofosfamida y factor VIII.

EHRENFORTH Y COLS (16) inducen inmunotolerancia mediante el siguiente protocolo:

1.- INHIBIDORES DE ALTA RESPUESTA : Factor VIII a dosis de 50 -300 U/KG/DIA y CCPA 100-200 U/KG/DIA.

2.- INHIBIDORES DE BAJA RESPUESTA: Reciben dosis de 30-60 U/KG/DIA de concentrados de factor VIII.

#### **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .**

En los años recientes se ha observado que algunos pacientes tipo hemofílicos tipo A o B que asisten a consulta al servicio de Hematología en el Hospital del Niño, presentan eventos hemorrágicos con mucha frecuencia, a pesar de que se les administra tanto factor VIII, factor IX, crioprecipitados o plasma. La falta de resultados satisfactorios durante el tratamiento lleva a una prolongada estancia hospitalaria, con un consecuente aumento en el riesgo de presentar complicaciones, así como una elevación de los costos del mismo.

Esta falta de resultados positivos por los tratamientos convencionales, en algunos pacientes hemofílicos multitransfundidos nos hace sospechar la presencia de inhibidores de los factores VIII y IX en ellos. El conocimiento de estas alteraciones inmunológicas en estos pacientes, permitiría modificar su plan de manejo médico, adecuándolo a su condición.

## **HIPOTESIS.**

La baja respuesta a la administración correspondiente del factor VIII y IX que se observa en algunos pacientes con hemofilia A y B que han sido multitransfundidos, se puede asociar a la presencia de inhibidores de las moléculas de los factores VIII y IX de estos individuos.

## **OBJETIVOS.**

1.- Determinar y dosificar inhibidores en pacientes con hemofilia A y B. Moderada y severa, a través de la cuantificación de anticuerpos contra los factores VIII y IX.

2.- *Relacionar la presencia de inhibidores a factores VIII con la evolución y IX comportamiento clínico en estos pacientes.*

3.- Establecer las bases para proponer un manejo médico más adecuado a estos pacientes.

## **JUSTIFICACION.**

Los pacientes con hemofilia A y B que han sido multitransfundidos con factor VIII, IX, crioprecipitados o plasma, presentan eventos hemorrágicos frecuentes, sin respuesta al tratamiento instituido. Hayándose como causa primordial de dichos eventos es la presencia de anticuerpos contra factor VIII o IX (inhibidores de factor VIII y IX). Encontrándose reportes, en la literatura universal (5) que la presencia de estos inhibidores del factor VIII ocurren en el 20% de los pacientes con hemofilia clásica y los inhibidores del factor IX, ocurren en el 10% de pacientes con hemofilia tipo B. Cabe mencionar que este padecimiento también se presenta en enfermedades autoinmunes independientes de la hemofilia (3).

El presente estudio se enfoca a detectar la frecuencia con que se presentan esta

variedad de patología, en nuestra unidad intrahospitalaria, en especial en el área

de hematología, dentro de los beneficios que puede proporcionar, podemos mencionar la disminución de riesgos, como es el prevenir la frecuencia de eventos hemorrágicos persistentes así como la disminución de las complicaciones subsecuentes como son: hematrosis, seudotumores hemofílicos, sangrados a nivel bucal, etc.(1). Consecuentemente, no presentándose estas complicaciones se reduce la estancia intrahospitalaria, así como el costo del tratamiento, aunado a establecer un mejor protocolo de rehabilitación para estos pacientes, conociendo los aspectos mencionados, evitaremos la terapia no efectiva o innecesaria, así como evitar las intervenciones invasivas, como es la colocación de "portacat" o cateter subclavio, etc. y de ser posible proponer terapia de inmunotolerancia.

#### **MATERIAL Y METODOS .**

Es un estudio abierto, observacional y prospectivo que incluye a pacientes hemofílicos A y B severos y moderados. Considerando a los pacientes severos aquellos que presentan de -1 a 1% de actividad de FACTOR VIII o IX y a los moderados a los que presentan de 1-5% de actividad.

Se inicia en el mes de agosto de 1995 y concluye en el mes de enero de 1996.

Se cita a los pacientes cada ocho días para toma de muestras y dosificación de inhibidores . Se incluye en este estudio a los pacientes hospitalizados. Con un total de 50 pacientes estudiados.

El método empleado para la dosificación de inhibidores, es el propuesto por la DRA. CAROL KASPER (9) el cual consiste en lo siguiente: el plasma problema se mezcla a partes iguales con la mezcla del plasma normal (pool) y se somete a una incubación durante 120 min. a 37 grados centígrados efectuando a continuación una dosificación de factor VIII, que en caso de existir un inhibidor en el plasma del paciente este neutralizará la actividad procoagulante del factor VIII y la cantidad presente de esta mezcla se verá disminuida al compararse con el control

negativo. Cuando estas condiciones se observan que la mezcla del plasma problema y el plasma normal proporciona una actividad de factor VIII residual del 50 % o menos se dice que el inhibidor esta presente y se reporta en UNIDADES BETHESDA. Para la determinación de esta prueba se utilizaron plasmas deficientes de factor VIII y IX marca Bhering, plasma normal de donadores (pool), plasma de pacientes a dosificar(18).



Para la realización de este trabajo se contó con personal de laboratorio clínico del Hospital del Niño.

El seguimiento de los pacientes fue realizado por el personal del servicio de Hemato-Oncología.

#### **RESULTADOS:**

Se estudiaron un universo de 50 pacientes del sexo masculino, con hemofilia A y B, de los cuales correspondían el 90 % a deficientes de factor VIII (hemofilia A) esto es 45 pacientes y el 10 % a Hemofilia B (deficiente de factor IX) con un total de 5 pacientes (gráfica No. 8)

La edad estuvo comprendida entre 12 meses y 14 años de edad, con un promedio de 6 años.

Diecisiete niños presentaron hemofilia severa (menos del 1 % de actividad de factor VIII), treinta y tres niños presentaron hemofilia moderada (actividad entre 1-5 % de actividad del factor VIII) (gráfica No. 1).

Se detectaron inhibidores en un niño, el cual corresponde a los pacientes con hemofilia severa y en los moderados no se detectó ninguno. El paciente con inhibidor cursó con cifras de más de 10 U.B./ml. por lo que fue clasificado como de alta respuesta (gráfica No. 7).

Se tomó en cuenta las dosis de unidades aplicadas de factor VIII y IX reportándose que quince pacientes recibieron menos de 1000 U., veinte pacientes recibieron entre 1000 a 3000 U., dos pacientes recibieron más de 10,000 U. de estos, el paciente con inhibidor recibió más de 10,000 U., lo cual es significativo ya que las múltiples aplicaciones de factor VIII y IX es una condición predisponente para el desarrollo de anticuerpos contra estos factores.

Se obtiene que el 80 % de los pacientes estudiados fueron manejados en forma ambulatoria es decir se aplica factor VIII como prevención para disminuir los eventos de sangrados leves y 20 % se manejaron en forma intrahospitalaria, siendo estos, pacientes con hemofilia severa y con eventos hemorrágicos graves como es hemorragia intracraneana, hematomas musculares y hemartrosis que ameritan manejo intrahospitalario (gráficas No. 6 y 9).

Se toma en cuenta la procedencia de los pacientes tanto del estado de Tabasco, Veracruz, Quintana Roo y Chiapas, en el que se obtiene una mayor incidencia en hemofilia en el municipio de Balancán, Tab. registrándose una tasa de 1.24 por cada 10 000 habitantes menores de 15 años, seguido de Centla, Tab. con una tasa de 1.17 por cada 10 000 habitantes menores de 15 años y en tercer lugar el centro de 0.98 por cada 10 000 habitantes menores de 15 años (gráfica No. 5). Tomando en cuenta que estas tasas de incidencia es en base a población abierta atendida por el Hospital del Niño.

## DISCUSION:

La incidencia de Inhibidores en Hemofilia A, se ha reportado, hasta del 20% pero estudios recientes, demostraron que es más baja . La diferencia en los resultados se debe a que las cifras altas corresponden a series reportados; por centros de referencia de hemofílicos, en donde se concentra la mayoría de pacientes graves.(1)

Sin embargo cuando estos inhibidores se calculan en relación al número total de hemofílicos, las cifras son mucho más bajas, como ocurrió en este estudio en el cual la incidencia global de inhibidores fue del 2%, se puede especular que en los pacientes con deficiencia del factor VIII, el organismo reconoce el reemplazo del factor VIII como material extraño y esto será la causa para desarrollar anticuerpos.

Sin embargo, esta explicación puede no ser muy convincente ya que no todos los pacientes con hemofilia severa desarrollan inhibidores con tratamiento substitutivo. Esta bien documentado por otros trabajos que los pacientes con hemofilia, pueden desarrollar un inhibidor a cualquier edad, pero más del 50% se han reportado antes de los 15 años de edad.

En un estudio realizado por Straus 1990 (1), la edad predominante al momento de la aparición de los inhibidores es de 7 años , similar al del presente trabajo ( 7 años).Coincidiendo por las múltiples transfusiones .

El inhibidor detectado lo clasificamos como de alta respuesta ya que se detectaron mas de 10 U.B. por lo que podemos esperar una evolución clínica torpida en este paciente ya que los que presentan este tipo de inhibidores tienen mayores manifestaciones clínicas graves y según la literatura revisada (1) tienen una alta prevalencia de presentación correspondiendo al 75-85 %.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

El comportamiento de un inhibidor varía considerablemente, de un paciente a otro. En otros pacientes, el inhibidor se desarrolla inicialmente con bajos títulos, pero con el tiempo o continuas exposiciones del factor VIII o IX, puede incrementar una respuesta anamnesica.

Algunos pacientes que tienen bajos títulos de inhibidor, muestran una respuesta anamnesica desde el principio pero retornan a títulos bajos si no son expuestos al factor VIII o IX. No obstante otros pacientes pueden cursar con títulos altos de inhibidores desde el momento de su detección y continuar así, se administre o no tratamiento substitutivo.

## CONCLUSIONES:

Se estudiaron 50 niños con Hemofilia A y B con el objetivo de investigar la presencia de inhibidores contra el Factor VIII y IX, de los cuales se obtiene que la prevalencia de estos inhibidores en el grupo total fue del 2%, en los pacientes con Hemofilia Severa Tipo A, considerando como Severa al Registro de - 1 % de actividad de Factor VIII.

Clasificamos a estos inhibidores detectados, como de alta respuesta ya que se registró más de 10 unidades Bethesda. Coincide con reportes estudiados, ya que se presenta en pacientes con Hemofilia Severa y en pacientes que han sido transfundidos, en este caso el paciente al que se detectó anticuerpos contra Factor VIII, es Severo, con multitransfusiones y con eventos hemorrágicos importantes como son Hemartrosis, Hematomas y Sangrado a nivel de aplicación de procedimientos invasivos, como colocación "portocat", originando larga estancia intrahospitalaria y alto costo de su manejo médico.

En este trabajo se registró un alto porcentaje de pacientes con Hemofilia correspondientes a la edad de 7 años, coincidiendo con reportes en el que la edad de aparición de inhibidores es a ésta edad.

No se reportaron defunciones en el grupo durante el estudio.

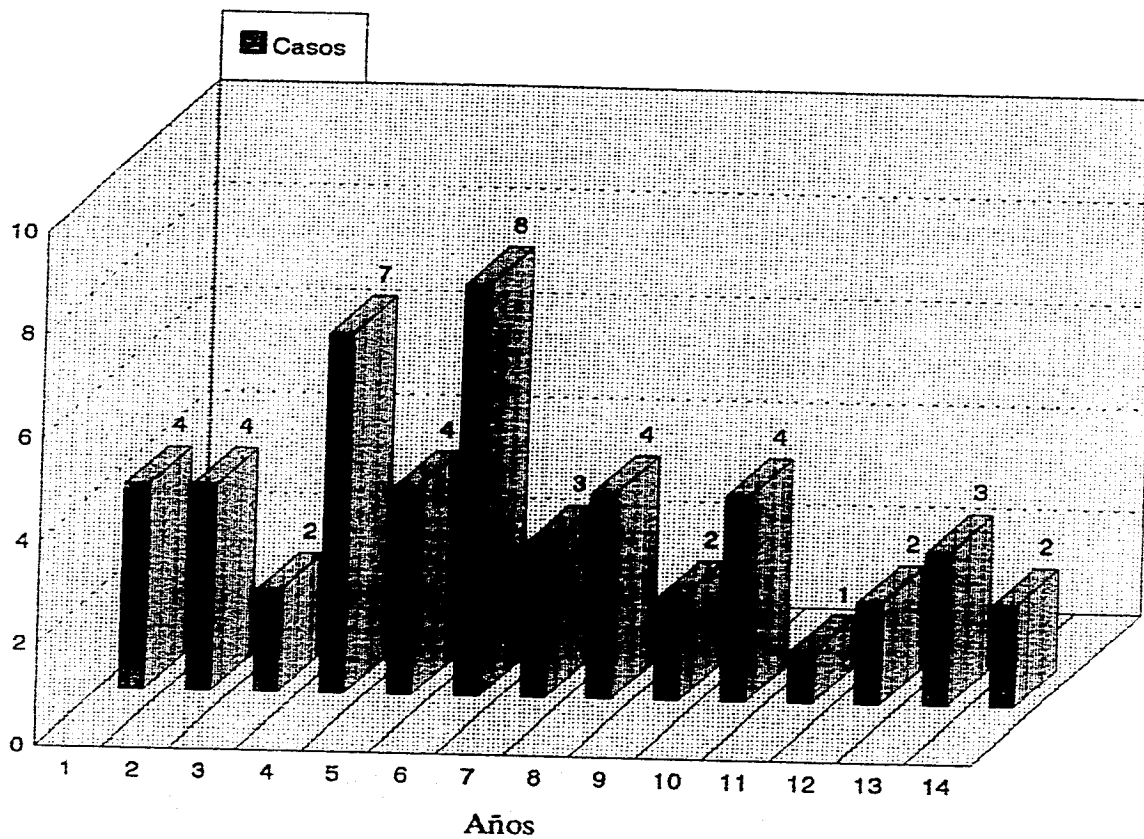
## BIBLIOGRAFIA.

1. Jeanne M. Lusher, Graig M Kessler. **Hemophilia and Medica** Amsterdam. 5ta. edición, 1994. Capítulo I-VI.
2. Abildgaard CF. Penner J.A. Watson-Williams E.J. **Antiinhibitor coagulant, for treatment of factor VIII inhibitors in hemophilia.** *Blood.* 1994. Vol 66, pag: 974-984.
3. Aledort L.M. Nilsson I.M. Sharammw. **Profylaxis the next hempphilia treatment.** 1992. *Hematology*, Vol I, pag: 76-105.
4. Hilgarner M.W. **Hemofilia en el niño y en el adulto, 4ta. edición.** EXPAXS S.A. 1990. Pag: 15-41, 207-231.
5. Hoffman R. Benz E.J. Shattil S.J. Furie B. Cohen H.J. **Hematology basic Principles and practice.** 1994. *Hematology* Vol I pag: 1276-1285, 1304-1314.
6. Lusher J. M. **Mangehent of hemophilia patiens with inhibitors.** *Hematology - Oncology Clinics of North American.* Vol. 6 No 5 Oct. 1992.
7. Senin-Hemat. **Use of porcine factor VIII for procedores hemophilia A. Patiens with inhibitors.** *Hematology Oncolgy Clinics*, Vol. I pag: 27-47.
8. Kasper C.K. et.al. **Amore unifor measurement of factor VIII - inhibitor trombosis et diathesis hemorragica.** *Hematology* 1993 Vol I pag: 869-872.
9. Montoro Ronsanto J.B. Jordan Masanes R.J. Roca Massa M. **Concentrado de factores de coagulación.** *Soc. Española de Farmacia Hosp.* 1993. Vol II pag: 1354-1400.
10. Lorenzo J.L. Garcia R. Molina R. **The factor VIII estructura and funtion.** *Blood.* 1980 Vol. I pag: 581-589.
11. Arrant P. Magallon M. **Psychological implications of profilaxis therapy** *Hematology.* 1990 vol. 5, pag: 369-371-
12. Fay P.J. **Factor VIII, estructura and function tromb haemostasis.** 1993 *Hematology Marchs.* Pag: 42-60
13. Addiego J. Kasper C. McMillan. C.W. **Continue infusion of monoclan antibody purified factor VIII, Rational approachto serius hemorrhage in**

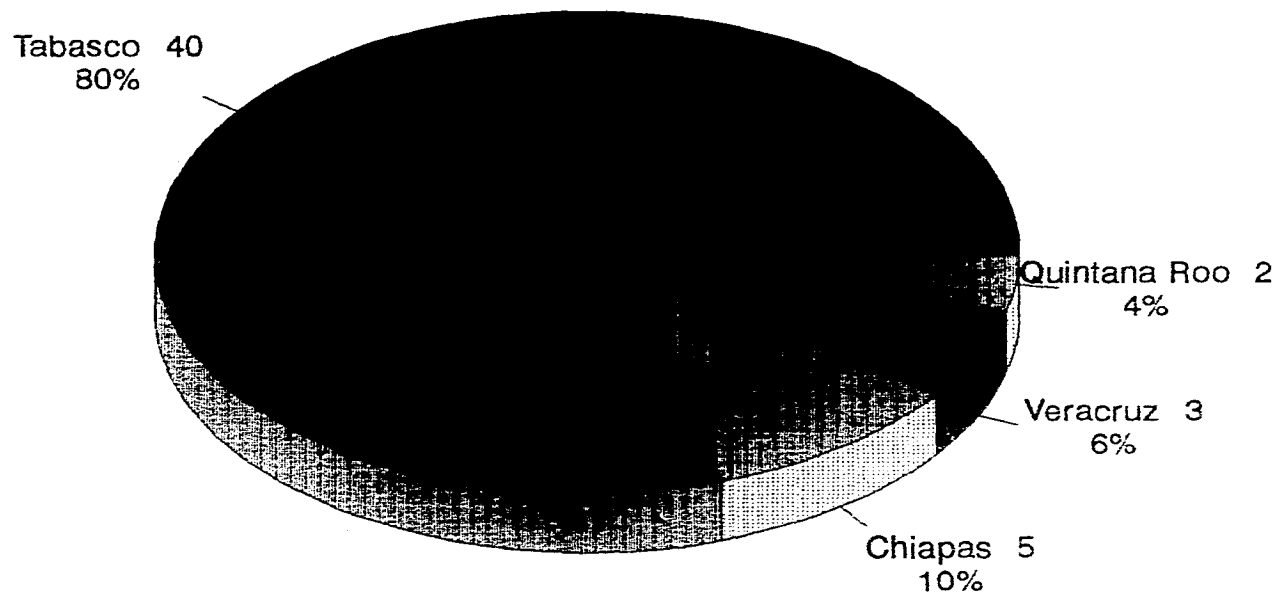
- patients with all-autoantibodies to factor VIII. 1994 Hematology. Feb 45 (2) 142-5.
14. Scharrer. Neutzling. Incidence of inhibitors in haemophiliacs. Blood-coagl- fibrinolysis. 1993 Oct. 4 753-8
15. Ulla Hender, Scandela. Altered immunity in haemophiliacs treated exclusively with cryoprecipitate. Ann-Acad-Med- Singadore. 1993 Mar. (22) 2-6.
16. Addiego J. Kasper C. Abildgaard C. Frequency of inhibitor development in haemophiliacs treated with low- purity factor VIII. Lancet. 1993. Agu. 21 pag: 342
17. Kasper Carol Nadia P. Ewing. The hemophilias. 6ta. edición, Pag: 40-50. Measurement of inhibitor to factor VIII y IX.
18. Giazar Steven. Management of hemophilia patients with inhibitors. Hematology-Oncology Vol 6 num 5. October 1992.

**APENDICE 1  
(GRAFICAS)**

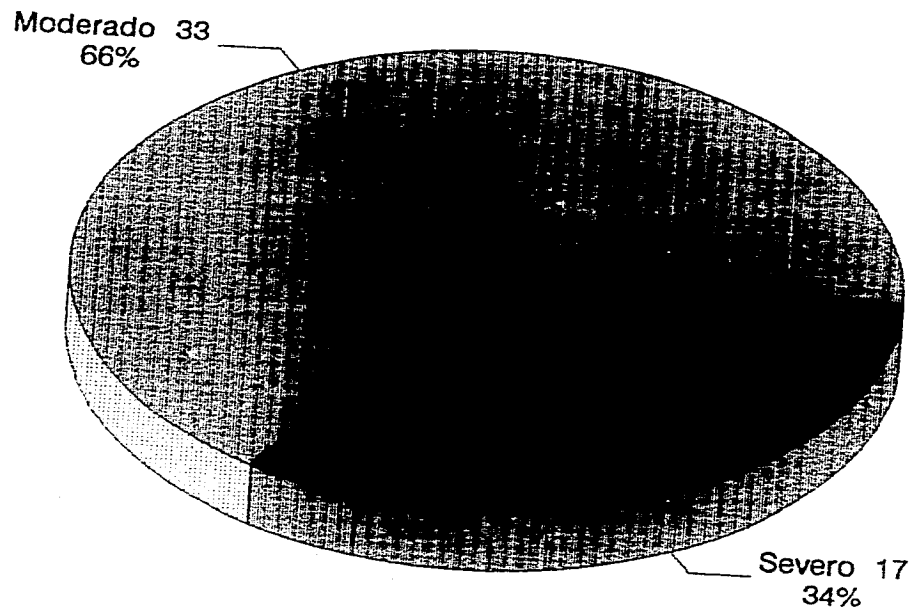




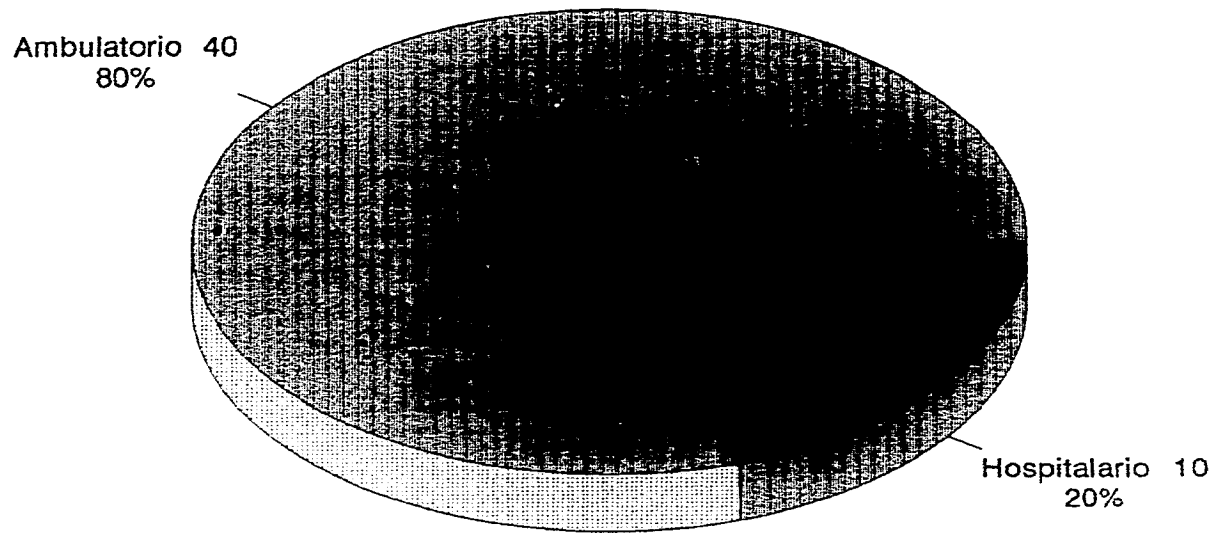
Grafica N° 1.- Distribución de los casos de Hemofilia según edad



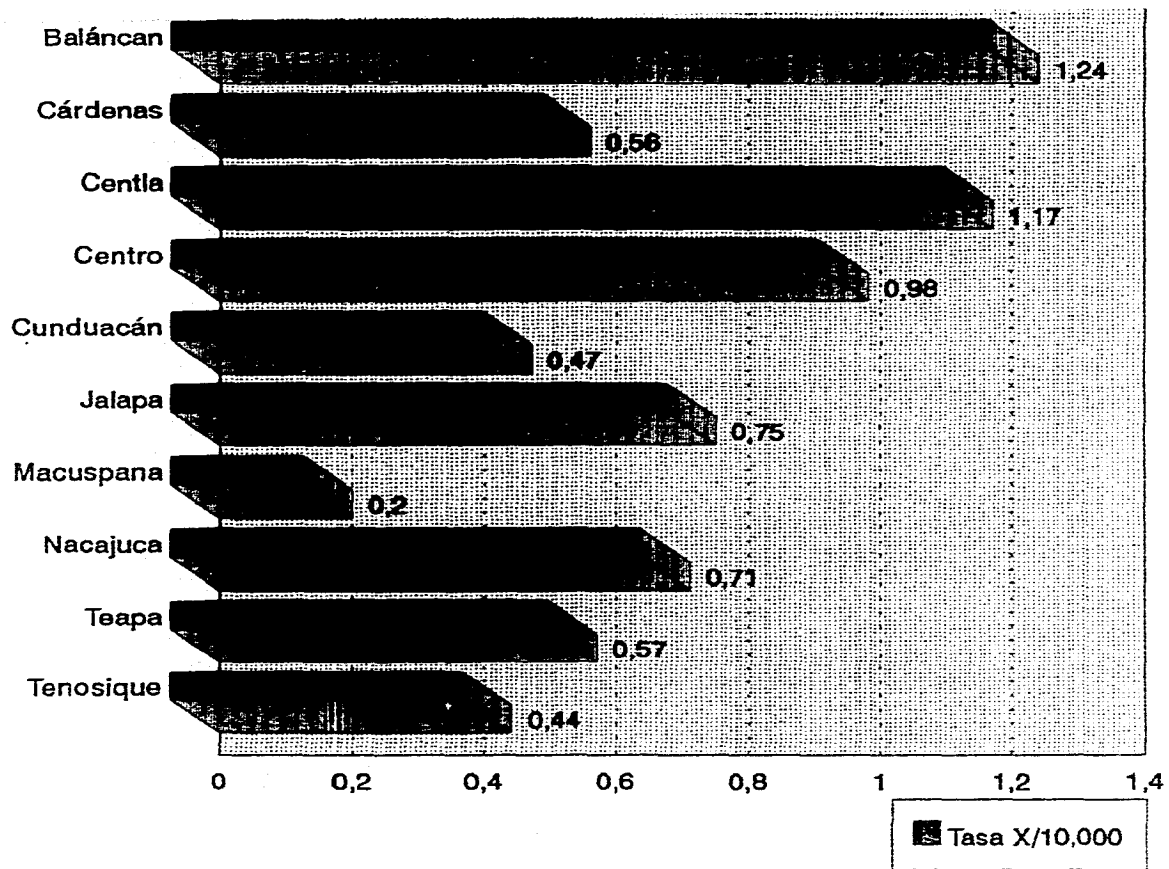
Grafica N° 2.- Distribución de los casos de Hemofilia según Estado de Residencia.



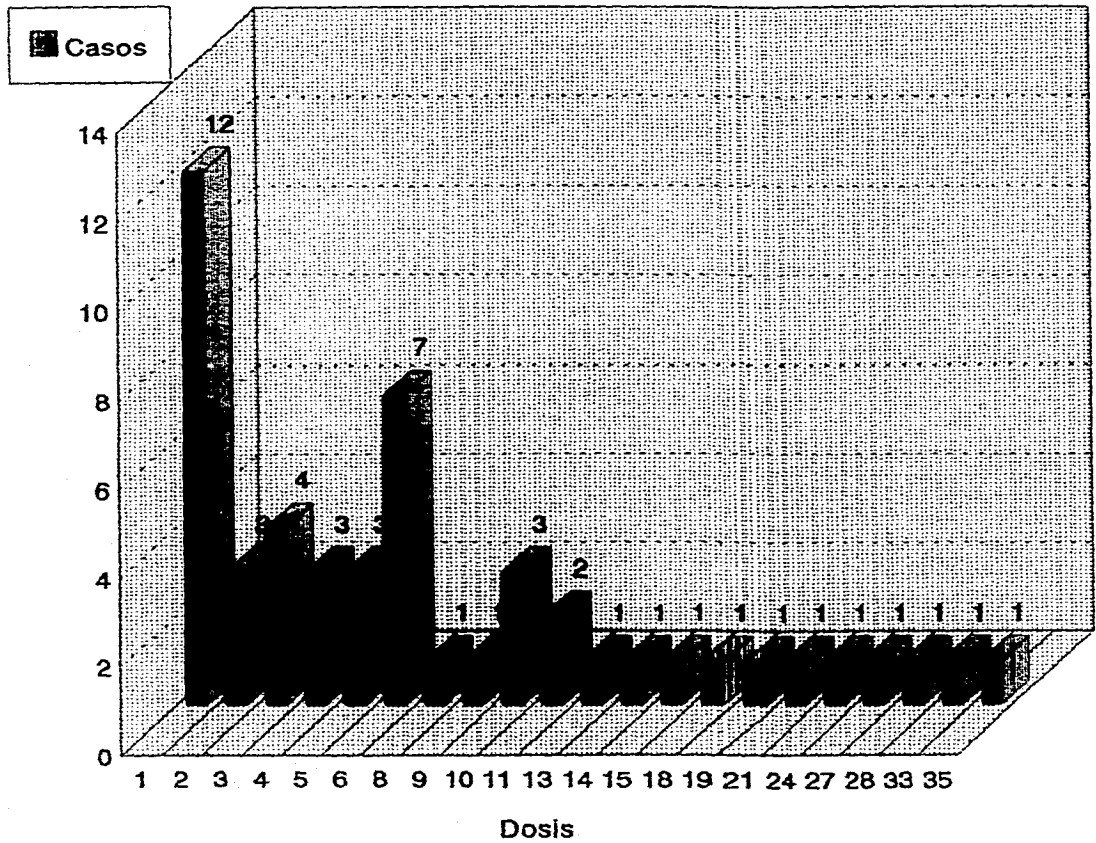
Grafica Nº 3.- Distribución de casos de Hemofilia según grado de actividad de factor severo (17) y moderado (33).



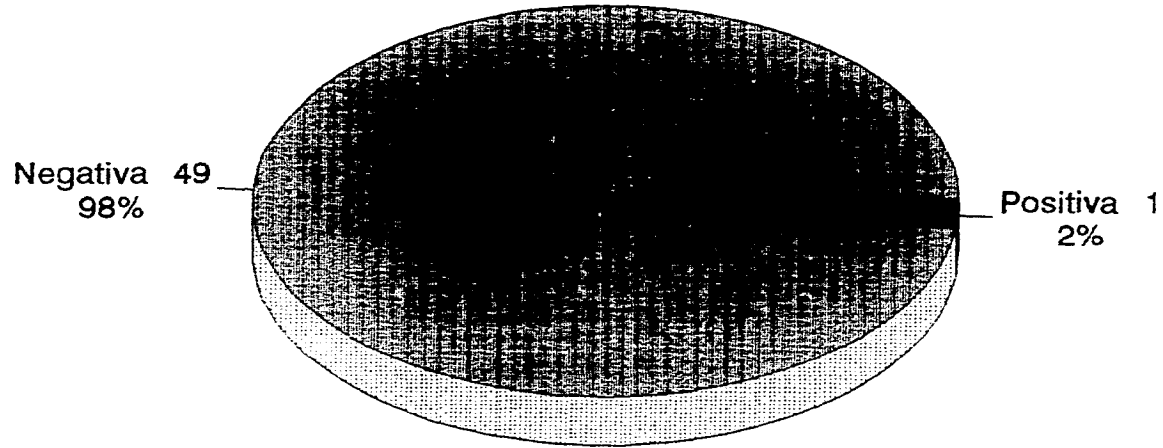
Grafica N° 4.- Distribución de casos de Hemofilia según manejo médico.



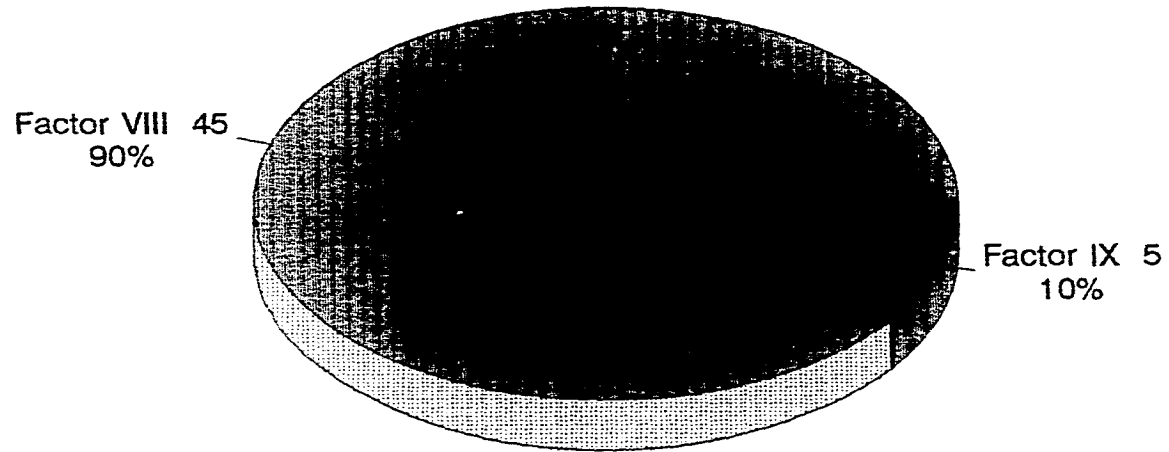
Gráfica N° 5.- Distribución de casos de Hemofilia X cada 10,000 Hab. Menores de 15 Años según municipio de residencia.



Grafica N° 6.- Distribución de casos de Hemofilia según frecuencia de dosis de Factor VIII y Factor IX aplicadas.

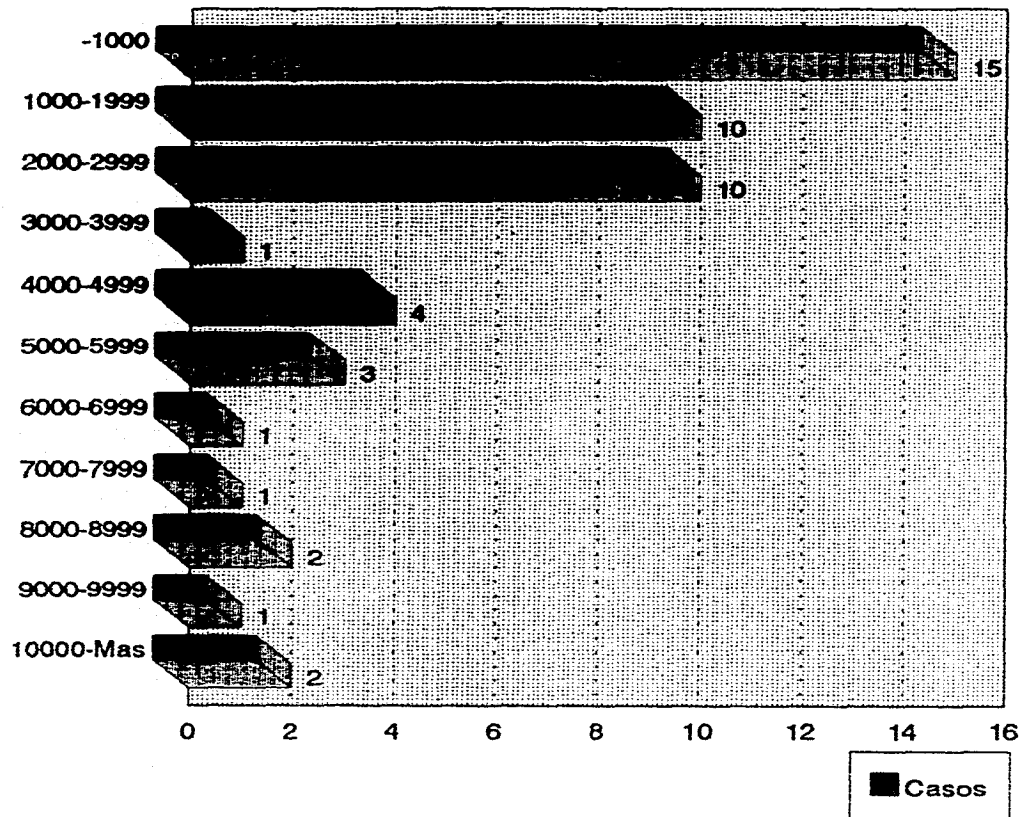


Grafica N° 7.- Distribución de casos de Hemofilia según presencia de inhibidores.



**Grafica N° 8.- Distribución de casos de Hemofilia según deficiencia de Factor VIII y IX.**





Grafica N° 9.- Casos de Hemofilia según dosis de Factor VIII ó IX en Unidades.