

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE POSGRADO

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

UMAE ESPECIALIDADES “DR ANTONIO FRAGA MOURET”

CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA

**SUBPOBLACIÓN LINFOCITARIA DE PACIENTES CON HEMOFILIA A GRAVE SIN
INHIBIDOR, CON INHIBIDOR COMPARADA CON SUJETOS SANOS.**

TESIS

PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALIZACIÓN EN HEMATOLOGÍA

PRESENTA

Carlos León Edgar

ASESOR DE TESIS: Dr. Jaime García Chávez

México, Distrito Federal 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

Dr. Jesús Arenas Osuna

División de Educación en Salud

Dr. Jorge Vela Ojeda

Titular del Curso Universitario

Dr. Carlos León Edgar

Médico residente de 4º año Hematología

No. de Registro Final: 2013-3501-6

INDICE

Página

4	RESUMEN
6	INTRODUCCIÓN, ANTECEDENTES CIENTÍFICOS
13	MATERIAL Y MÉTODO
14	RESULTADOS
22	DISCUSIÓN
24	CONCLUSIÓN
25	BIBLIOGRAFÍA
27	ANEXO

García-Chávez J, León-Edgar C. Subpoblación linfocitaria de pacientes con Hemofilia A Grave sin inhibidor, con inhibidor, comparada con sujetos sanos.

Objetivo: Comparar la media de linfocitos NK y NKT de los pacientes con Hemofilia A grave sin inhibidor, con inhibidor y sujetos sanos, y determinar si existen diferencias.

Material y método: Estudio transversal, descriptivo, observacional y comparativo en pacientes con Hemofilia A grave sin inhibidor, con inhibidor comparado con sujetos sanos de la clínica de Hemostasia y Trombosis del servicio de Hematología del Hospital de Especialidades “Antonio Fraga Mouret”, del Centro Médico Nacional La Raza en México DF, enero 2013. Basado en las observaciones previas de pacientes con trombocitopenia inmune y su comportamiento inmunofenotípico. Se obtuvo una muestra de 5 ml de sangre y citometría de flujo obteniendo la cantidad de NK y NKT de cada muestra. Análisis estadístico: estadística descriptiva.

Resultados: Se estudiaron 33 pacientes, 7 de los cuales tuvieron la presencia de inhibidor, observando en este grupo una cuenta total mayor de leucocitos y linfocitos, incluso de células NKT; sin embargo con respecto a la cuenta de NK este grupo en particular tuvo una cuenta menor de esta subpoblación linfocitaria.

Conclusión: Los pacientes de Hemofilia A Grave más inhibidor no sólo tienen diferencias en cuanto a comportamiento clínico, calidad de vida, respuesta a tratamiento, también se encontró en el perfil inmunofenotípico una media de células NK menor que las encontradas en el grupo de pacientes de Hemofilia A Grave sin inhibidor y el grupo control de sujetos sanos, enfatizando la función reguladora de este tipo de subpoblación linfocitaria en la respuesta inmune de los individuos.

Palabras clave: Hemofilia A, Inhibidores, subpoblaciones linfocitarias supresoras del sistema inmune.

García-Chávez J, León-Edgar C. Lymphocyte subpopulation of patients with severe Hemophilia A without inhibitor, inhibitor compared with healthy subjects.

Purpose: Compare the average NK and NKT lymphocytes of patients with severe Hemophilia A without inhibitor and healthy subjects, and to determine whether there are differences.

Materials and Methods: Transversal, descriptive and comparative study in patients with severe hemophilia A without inhibitor, compared with healthy subjects inhibitor of Hemostasis and Thrombosis Clinic of hematology department Specialty Hospital "Antonio Fraga Mouret," The National Medical Center Raza in Mexico City in January 2013. Based on previous observations of patients with immune thrombocytopenia and immunophenotypic behavior. A sample of 5 ml of blood flow cytometry and obtaining the amount of NK and NKT each sample. Statistical analysis: descriptive statistics.

Results: We studied 33 patients, 7 of whom had the presence of inhibitor, noting in this group a higher total count of leukocytes and lymphocytes, even NKT cells, yet with respect to NK account of this particular group had a lesser account of this lymphocyte subpopulation.

Conclusions: Patients with more severe haemophilia A inhibitor not only differences in the clinical behavior, quality of life, treatment response was also found in the immunophenotypic profile half of NK cells smaller than those found in the group of patients with Hemophilia A grave without inhibitor and the control group of healthy subjects, emphasizing the function of regulating lymphocyte subpopulation such immune response in individuals.

Keywords: Hemophilia A, Inhibitors, lymphocyte subpopulations immune suppressor.

ANTECEDENTES CIENTÍFICOS:

La Hemofilia A es un desorden sanguíneo hereditario ligado al cromosoma X que condiciona carencia o una cantidad insuficiente de factor VIII funcional. El factor VIII es una glicoproteína producida por el hígado como una cadena polipeptídica única de 2332 aminoácidos que subsecuentemente se somete a proceso proteolítico.(1)

La Hemofilia A es causada por una deficiencia del factor de coagulación sanguínea VIII. Este factor actúa como un cofactor, en una reacción inicial crítica de activación del factor X en la cascada de coagulación. La hemofilia A es un desorden sanguíneo que afecta aproximadamente a uno de cada 5000 hombres. Los pacientes con deficiencia o mutación del factor VIII tienen a lo largo de su vida tendencia al sangrado con severidad variable. Los individuos afectados con hemofilia más severa están en riesgo de episodios de sangrado espontáneo en articulaciones o músculos y a veces en órganos como el cerebro. Estos episodios pueden llevar a problemas crónicos como artritis severa. Los episodios de sangrado agudo tratados con concentrados de factor VIII o IX purificado de plasma humano han llevado a transmisión de HIV o hepatitis B o C. Debido a la vida media corta de estos factores, las infusiones repetidas son requeridas para episodios de sangrado mayores. Incluso los pacientes con deficiencia leve están en riesgo de sangrado posterior a un trauma moderado. (2)

Los pacientes con hemofilia A son tratados con concentrados recombinantes o factor VIII derivado de plasma. La terapia de sustitución puede inducir la producción de anticuerpos inhibidores en cerca del 20% de los pacientes con Hemofilia A . (1)

La capacidad para montar una respuesta inmunológica contra proteínas solubles, depende de la presentación eficiente de péptidos derivados de proteínas a células T específicas. Varias líneas de evidencia indican que la respuesta inmune para FVIII es dependiente de la célula T. Primero las hipermutaciones son consistentemente observadas en la codificación de genes para la parte variable de los anticuerpos contra el FVIII obtenidos ya sea por inmortalización de linfocitos de la sangre periférica de pacientes con inhibidor. Esto indica que las células B productoras de anticuerpos anti FVIII sufren un proceso de maduración que requiere la cooperación de células T específicas, la observación de que una gran cantidad de anticuerpos pertenecen a la subclase IgG4 habla del rol de las células T en el desarrollo de la respuesta humoral al FVIII; finalmente la evidencia directa de que la respuesta humoral al factor VIII es dependiente de células T fue dada por la observación de que en pacientes con una respuesta humoral establecida al factor VIII, HIV infectados lleva a la desaparición del inhibidor cuando la cuenta de células T disminuye. (1)

El desarrollo de anticuerpos neutralizantes anti factor VIII (FVIII) es la mayor complicación de los pacientes con Hemofilia A tratados con productos con factor VIII. La aplicación a largo plazo de altas dosis de factor VIII se ha sugerido como una terapia efectiva para erradicar los anticuerpos y para inducir inmuno tolerancia. (3)

Las células B de memoria juegan un rol esencial en el mantenimiento de la respuesta de anticuerpos establecida. En la re exposición al mismo antígeno, ellas son rápidamente estimuladas a proliferar y diferenciarse en células plasmáticas secretoras de anticuerpos (ASCs) de alta afinidad. Más aún las células B de memoria tienen el potencial de actuar como células presentadoras de antígeno muy eficientes, estimuladoras de células T CD4+

por la expresión de receptores antigénicos de alta afinidad, Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC) clase II y moléculas co estimuladoras. (3)

Hay un umbral de dosis de FVIII para la óptima estimulación de respuesta de memoria en vivo y en vitro. La dosis de factor por encima del umbral inhibe más que estimular la respuesta de la célula B de memoria específica de FVIII. Esta inhibición es irreversible. La erradicación de las células B de memoria podría prevenir su diferenciación a células productoras de anticuerpos, y más aún, podría llevar a una deficiencia de células presentadoras de antígenos efectivas necesarias para la re estimulación de células T específicas de FVIII. La inducción de células T reguladoras más que células T efectoras podría ser consecuencia de esta deficiencia (3).

Los pacientes con Hemofilia demostraron anormalidades en la inmunidad celular cuando se compararon con profesionales sanos. En al menos 50% de los pacientes con Hemofilia A demostraron una anormalidad en el radio de linfocitos T cooperadores/células supresoras. En los pacientes hemofílicos la disminución del radio es resultado de un incremento sustancial de las células T supresoras. (4)

Inversión de radio de células cooperadoras/supresoras a causa de un incremento de las células supresoras es frecuentemente visto con un aumento inmune, una respuesta a una variedad de estímulos. (4)

Los pacientes hemofílicos están sujetos a repetida estimulación antigénica de las proteínas del plasma y virus encontrados en concentrados de factor. Existe una relación entre el

desarrollo de una anormalidad en la inmuno regulación y la cantidad total de concentrado de factor VIII al cual el paciente hemofílico ha sido expuesto. (4)

Hipergammaglobulinemia y niveles elevados de complejos inmunes son comunes en pacientes con SIDA, pacientes con hemofilia y hepatitis. Puede ser paradójico que la evidente activación policlonal de células B coexiste con hallazgos de deficiencia de células T, hallazgos similares han sido observados en infecciones virales, sobre expresión antigénica crónica y algunos síndromes de inmunodeficiencia primarios y adquiridos de células T. La transfusión de concentrados con sus proteínas plasmáticas y virus puede producir hiperglobulinemia y complejos inmunes aumentados. (4)

El mayor problema en el tratamiento clínico de la Hemofilia A usando terapia de remplazo de factor es una alta frecuencia de formación de anticuerpos contra factor VIII. Aproximadamente 25% de los pacientes con Hemofilia A desarrollan anticuerpos después de repetidas infusiones de la proteína Factor VIII. El desarrollo de inhibidor incrementa significativamente la morbilidad y disminuye la calidad de vida de los pacientes con hemofilia A y el tratamiento de estos pacientes es costoso y muy cambiante. Actualmente, existen relativamente pocos criterios predictivos para identificar a los pacientes con mayor riesgo de desarrollar anticuerpos. El desarrollo de anticuerpos inhibidores se correlaciona parcialmente con el tipo de mutación dentro del gen del factor VIII, el modo de la administración de la proteína, el estado inmunológico del individuo en el momento de la infusión y posiblemente, con el tipo específico del Complejo Mayor de Histocompatibilidad clase II. Estas observaciones indican que los factores que influyen la formación de anticuerpos son probablemente complejos y definidos parcialmente. (2)

Los protocolos de inducción de tolerancia inmune que involucran presentación de antígenos y los métodos para evadir la respuesta inmune anti Factor VIII a menudo son exitosos en sólo una fracción de los pacientes tratados con agentes inmunosupresores. Por lo tanto los regímenes de inmunomodulación transitoria para reducir o eliminar anticuerpos inhibidores anti factor VIII son altamente atractivos. La tolerancia periférica a antígenos específicos puede ser inducida a través de varios mecanismos para alterar la activación de células T o la interacción de linfocitos B y T, o inhibir la función de la célula B o T; en adición, la tolerancia dominante puede ser establecida a través de supresión activa de células T activadas efectoras por células T reguladoras. (2)

Rituximab es un anticuerpo monoclonal humanizado contra el antígeno Pan B CD 20 e induce in vivo depleción de linfocitos B maduros. Reportes limitados describieron el uso de rituximab en niños y adultos con Hemofilia congénita e inhibidor. Reportes de caso de tratamiento con rituximab en un pequeño número de pacientes con Hemofilia congénita con inhibidor han sido inconclusos. Sin embargo los efectos de rituximab en combinación con otros agentes inmunomoduladores o terapia de tolerancia inmune (ITI) no han sido evaluados. (2)

El ejemplo más claro lo dan los intentos actuales para el tratamiento de la Trombocitopenia Inmune refractaria y se basan en el mejor entendimiento de las anomalías inmunológicas asociadas, así como en la disponibilidad de productos biotecnológicos sofisticados. Uno de esos intentos involucra el uso de anticuerpos monoclonales dirigidos contra el antígeno CD 20, una proteína transmembrana hallada en la superficie de las células B malignas y su

contraparte normal, pero no en las células hematopoyéticas, plasmáticas normales, células pre B u otros tejidos. Esta molécula CD 20 es un buen blanco terapéutico pues no se desprende de la superficie celular y no se internaliza al unirse con anticuerpos. (11) Debido a que las células productoras de anticuerpos son de estirpe B y CD 20 + se ha utilizado rituximab dentro del tratamiento de enfermedades de etiología autoinmune. (12)

Ha sido demostrado que la severidad de la Hemofilia A, defectos mayores en los genes del factor VIII, historia familiar, raza no caucásica son las mayores factores de riesgo para el desarrollo de inhibidores. Los inhibidores tienden a desarrollarse dentro de los diez primeros días de exposición y raramente se desarrolla después de los 50 días de exposición. (5)

La exposición temprana ha sido implicada como un posible contribuyente para el desarrollo de inhibidor del factor VIII. El impacto potencial de la edad en la primera exposición en el desarrollo de inhibidor fue evaluado en 3 estudios de cohorte. En general hay algo de preocupación acerca de que la exposición aumentada en el primer año de vida contribuye a la formación de aloanticuerpos. Sin embargo hay datos de algunos estudios que concluyen que existen otras confusoras tales como un genotipo más severo, fenotipo o la intensidad del tratamiento para explicar el incremento del riesgo para el desarrollo de inhibidor. Esto puede pasar cuando la célula presentadora de antígeno, las cuales son necesarias para la iniciación de respuesta inmune, son inducidas por “señales de peligro” tales como la infección, vacunación, tejido sometido a daño. (5).

Mientras que un 50 a 80% de los pacientes con inhibidor responden a la inducción de inmunotolerancia tradicional, hay un número significativo que no. La adición de medidas inmunomoduladoras ha sido considerada por años. La inmunoadsorción es usada para

remover altos títulos de inhibidor y para alcanzar un título debajo de 10 unidades Bethesda al inicio de inducción de inmunotolerancia. Muchos pacientes son tratados con dosis única de corticoesteroide seguido de ciclofosfamida e inmunoglobulina intravenosa con el comienzo de altas dosis de factor VIII diario. (5)

Un agente inmunomodulador que es de particular interés es rituximab, un anticuerpo quimérico monoclonal contra el antígeno CD 20 que bloquea la proliferación de células B normales, así interfiere con la producción de anticuerpos IgG. Varios casos reporte sobre el uso de rituximab como parte de un intento de erradicar el inhibidor ya sea solo o en combinación con ITI, han sido publicados. Un resumen y análisis de 29 estudios, incluyendo 49 casos reporte, mostraron que una respuesta completa durable fue obtenida en 53% de los casos y ningún evento adverso relacionado a rituximab fue documentado. (5)

MATERIAL Y MÉTODO.

Estudio prospectivo, observacional, transversal y comparativo en pacientes con Hemofilia A grave con y sin Inhibidor de la clínica de hemostasia y trombosis de adultos y clínica de Hemofilia pediatría comparado con sujetos sanos del Banco de Sangre todos del Centro Médico Nacional La Raza.

Los pacientes fueron captados en la Clínica de Hemostasia y Trombosis del Hospital de Especialidades, Clínica de Hemofilia Pediatría Hospital General y del Banco de Sangre de esta unidad e invitados a participar en el protocolo “Subpoblación linfocitaria de pacientes con Hemofilia A sin inhibidor, Hemofilia A con inhibidor comparada con sujetos sanos”. Una vez se contó con el consentimiento informado se recolectó, por parte del investigador asociado en el laboratorio de Hematología especial, la muestra de sangre en cantidad de 5 ml; misma que fue procesada por medio de Citometría de flujo. El investigador asociado recogió los resultados y se vaciaron a la tabla de recolección de datos y se procedió al análisis de los mismos. La información de este estudio se obtuvo como análisis primario, basado en las observaciones realizadas en el estudio previo “Inmunofenotipo Linfocitario de pacientes con Púrpura Trombocitopénica Inmune” realizado en el servicio de Hematología de esta unidad en 2008.

Una vez se concluyó el escrutinio se procedió a describir los resultados con estadística básica.

RESULTADOS

Del total de pacientes con Hemofilia A Grave incluidos en enero 2013, treinta y tres cumplieron criterios para entrar al protocolo de subpoblación linfocitaria: trece de los cuales tienen el diagnóstico de Hemofilia A Grave sin inhibidor 40% de la población en estudio, siete Hemofilia A grave con inhibidor que es el 21%, de igual forma se eligió el mismo número de donadores sanos correspondiendo al 39%. (Figura 1). Con mediana de edad de 22 años (rango 15-35) y media de 23 años (rango 15-35) para el grupo de Hemofilia A sin inhibidor; mediana de 20 años para el grupo de hemofilia con Inhibidor (rango 15-26), mediana de 21 y media de 22 años para el grupo de sujetos sanos (rango 18-35). Se analizaron 2 marcadores linfocitarios NK y NKT para poblaciones específicas, simultáneamente se analizaron los valores de leucocitos y linfocitos.

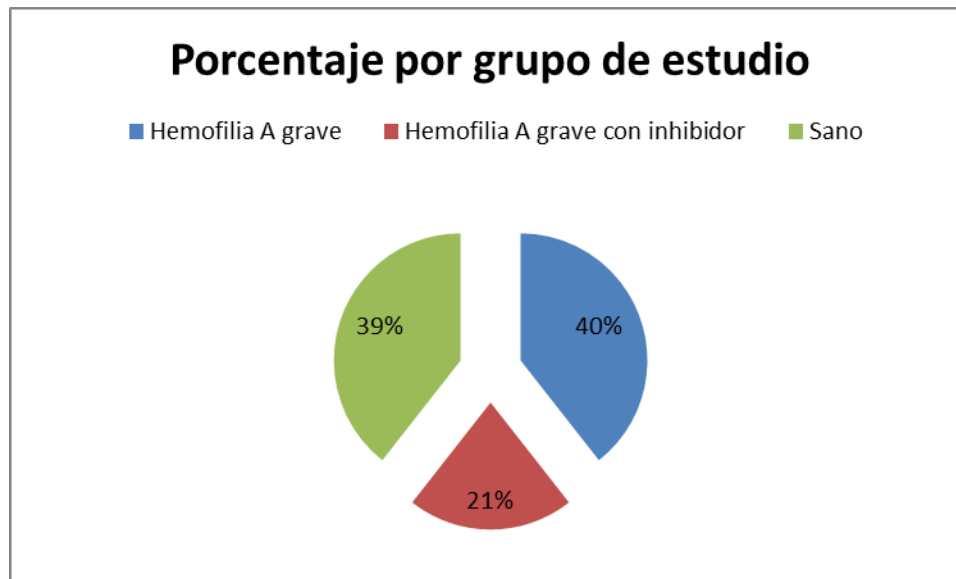


Figura 1

Del grupo de pacientes de Hemofilia A grave con inhibidor los pacientes tuvieron una media de edad de 20 años un rango de 16 a 26 años. El 28 % de los pacientes por la cantidad de unidades Bethesda considerados como inhibidores de alta respuesta, el resto catalogados como de baja respuesta ya que tenía determinaciones por debajo de 5 unidades Bethesda. El 42 % se tratan con factor VII recombinante a requerimiento en promedio 1 vez por semana y el 14% manejado con concentrado de complejo protrombínico. 42% de los pacientes se encontraron asintomáticos sin requerimiento de Factor VIII, VII o concentrado de complejo protrombínico.

Tabla 1. Característica de los pacientes con Hemofilia A grave más inhibidor.

Sexo	Edad	Tratamiento	Título de inhibidor
Masculino	20	Factor VII	>5 unidades Bethesda
Masculino	26	Factor VII	10 unidades Bethesda
Masculino	15	FEIBA	< 5 unidades Bethesda
Masculino	24	Asintomático	<5 unidades Bethesda
Masculino	18	Asintomático	<5 unidades Bethesda
Masculino	22	Asintomático	<5 unidades Bethesda
Masculino	16	Factor VII	<5 unidades Bethesda

En el análisis entre los grupos y la cuenta absoluta de leucocitos y subpoblaciones linfocitarias se observa una cantidad mayor en todas las determinaciones, excepto en las células NK donde la diferencia fueron más de 100 células, mismo que fue estadísticamente representativo ya que fue la media establecida para considerar diferencia en las subpoblaciones linfocitarias obteniendo una cuenta de NK de 133. Figura 2

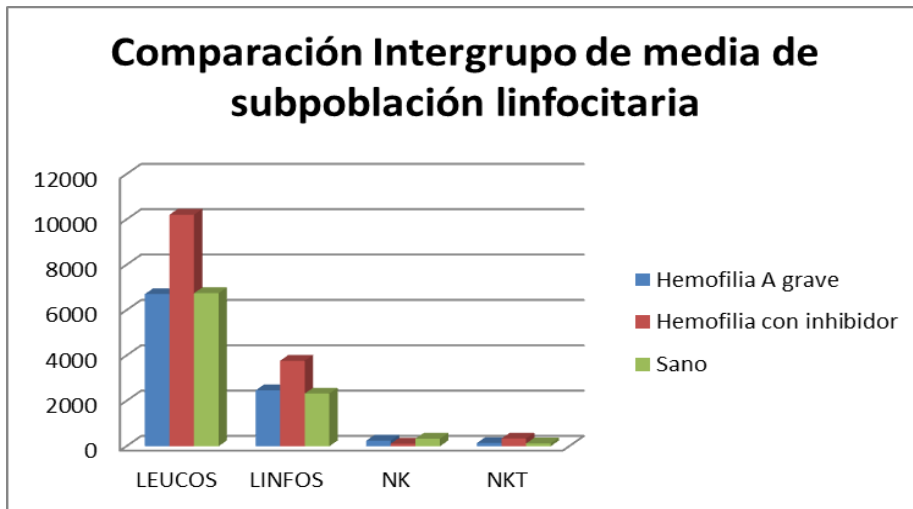


Figura2

Se encontró una diferencia de medias de leucocitos entre pacientes de Hemofilia A grave sin inhibidor y el grupo con inhibidor comparado con el grupo de sanos, donde la cuenta absoluta mayor corresponde al grupo de pacientes con Hemofilia más inhibidor. (Figura 3)

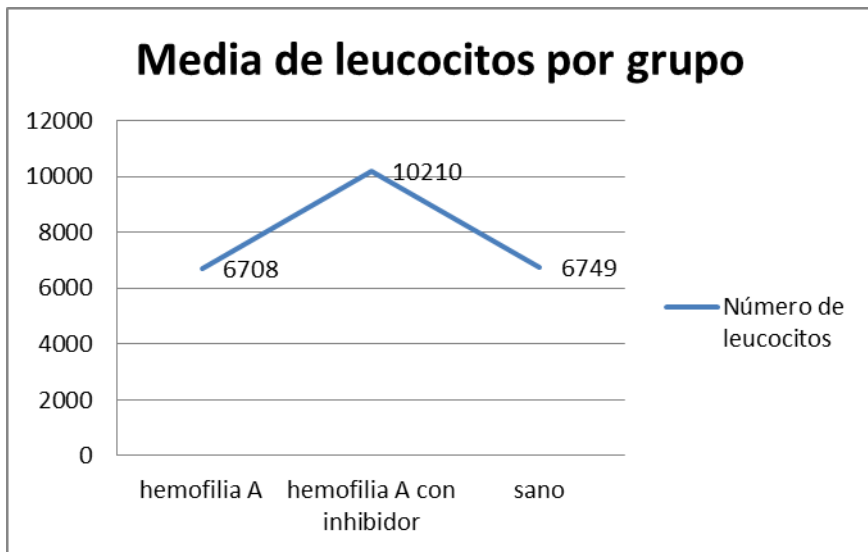


Figura 3

De igual forma se encontró una cuenta absoluta de linfocitos mayor en el grupo de pacientes con Hemofilia más inhibidor correspondiendo a una media de $3777 \times 10^6/L$ linfocitos, el grupo control $2322 \times 10^6/L$ y los pacientes de Hemofilia A sin inhibidor tuvieron una media de $2463 \times 10^6/L$ células. Figura 4.

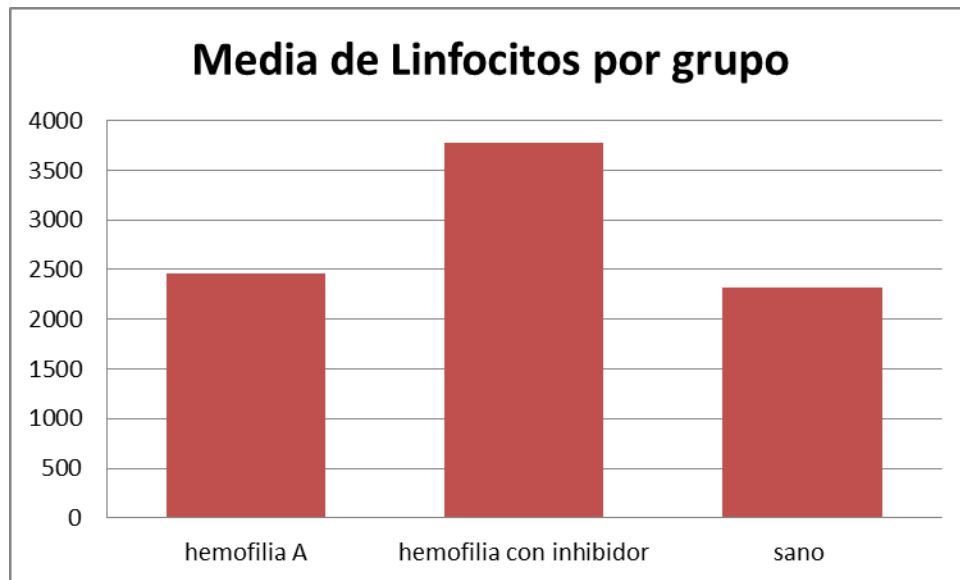


Figura 4

Se observa la media de NK primera subpoblación de linfocitos en estudio se encuentra disminuida con respecto a los pacientes de Hemofilia A grave sin inhibidor y los sujetos sanos con una p estadísticamente significativa 0.042; sabemos que esta subpoblación son linfocitos T con actividad antitumoral, respecto de ellas es conocido que algunas de sus variantes tienen función reguladora y supresora sobre las células productoras de anticuerpos manteniéndolas al margen y evitando la producción descontrolada de anticuerpos en este caso inhibidores. Figura 5.

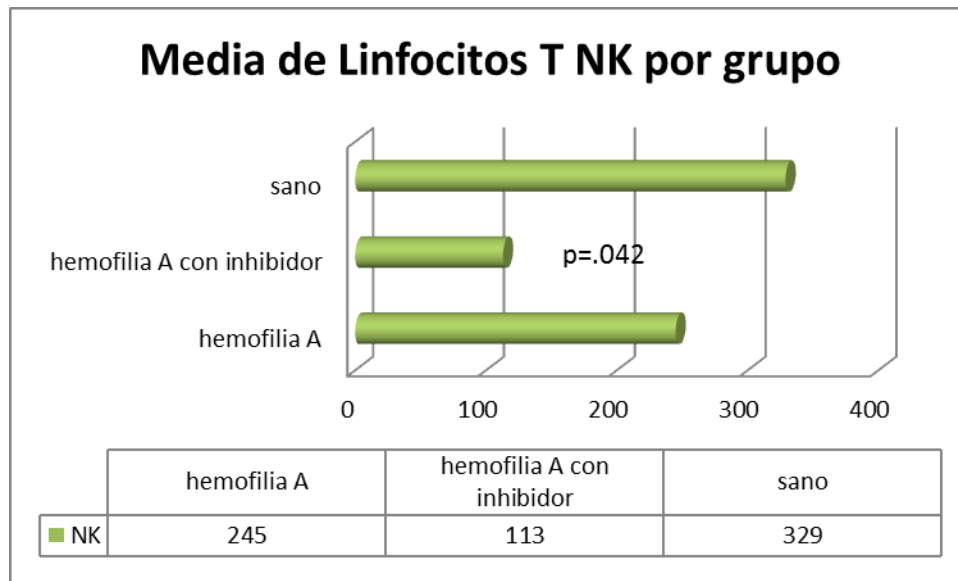


Figura 5

Con respecto a la cuenta de linfocitos NKT se ve una cuenta aumentada de estas células en las determinaciones de pacientes de Hemofilia A grave con inhibidor con una media de 339; una media de 140 y 122 para los pacientes de Hemofilia A grave sin inhibidor y sujetos sanos respectivamente. Figura 6.

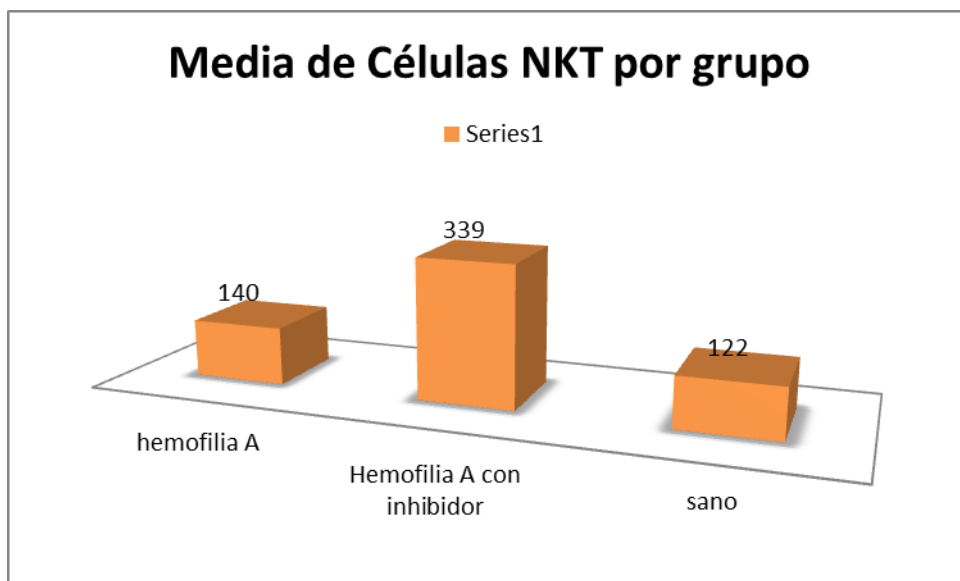


Figura 6

DISCUSIÓN

Es conocido que la calidad de vida del paciente con Hemofilia se encuentra mermada por las complicaciones derivadas de las hemorragias presentadas en la gran mayoría de las ocasiones en los pacientes con Hemofilia A grave de forma espontánea (8); el tratamiento con factor VIII liofilizado ahora disponible, es una excelente opción terapéutica y de fácil acceso para el paciente. Sin embargo existe un pequeño grupo de pacientes que debido a múltiples factores ya descritos en la literatura (2,5,6) desarrolla la presencia de anticuerpos principalmente IgG dirigidos no sólo contra el factor VIII endógeno, sino también el que se administra por vía parenteral, dificultando el manejo por diferentes motivos como accesibilidad, costo e incluso eficacia; de ahí la importancia de conocer el perfil linfocitario de las células involucradas en la producción de anticuerpos, pero específicamente y objetivo de este trabajo, de aquellas células que han mostrado un mecanismo indirecto de supresión y regulación de las células efectoras en la producción de anticuerpos, particularmente la subpoblación linfocitaria NK y NKT, esto basado en las observaciones hechas en el trabajo García Chávez J, Gómez-Uribe ME, Vela Ojeda J. Inmunofenotipo linfocitario de pacientes con Púrpura Trombocitopénica Inmune refractaria, en tratamiento con rituximab y en pequeños reportes de la literatura mundial (3,9,11).

Dentro de las observaciones en este estudio hay una tendencia de los pacientes con Hemofilia A grave más inhibidor a tener cuentas más altas de leucocitos y linfocitos comparativamente con los pacientes sin inhibidor y controles sanos.

Sólo una determinación fue claramente menor en el análisis comparativo con una p significativa de 0.042 correspondiendo a la subpoblación linfocitaria NK lo cual va acorde a nuestra hipótesis donde estas células con carácter regulador de células productoras de anticuerpos se encuentran disminuidas, lo cual haría pensar que puede existir cierta predisposición a desarrollar inhibidor en los pacientes con Hemofilia que tienen esta característica. Sin embargo dado que el tamaño de muestra no fue logrado debido a la escasa cantidad de pacientes con hemofilia más inhibidor estos resultados no pueden ser tomados como definitivos.

La población total de hemofílicos con inhibidor en el Centro Nacional La Raza es limitada por lo que el tamaño de muestra se ve afectado e imposibilita el análisis estadístico, no obstante a pesar del escaso número de pacientes con esta característica por la baja frecuencia de esta complicación en los pacientes con Hemofilia A Grave en el análisis comparativo se muestra una clara tendencia de los pacientes que desarrollan inhibidor a tener cuentas bajas de células NK tomando la diferencia de medias con una p estadísticamente significativa.

Los resultados obtenidos no pueden tomarse como concluyentes, dado que se trata de un estudio piloto, por los hallazgos y la trascendencia de dilucidar si existe un mecanismo de disregulación inmunológica que lleva al desarrollo de inhibidores, abren camino a estudios posteriores con un seguimiento mayor, perfil inmunofenotípico más completo pero primordialmente un tamaño de muestra significativo que permitan en conjunto validar las conclusiones.

CONCLUSIONES

Los pacientes de Hemofilia A Grave más inhibidor no sólo tienen diferencias en cuanto a comportamiento clínico, calidad de vida, respuesta a tratamiento, también se encontró en el perfil inmunofenotípico una media de células NK menor que las encontradas en el grupo de pacientes de Hemofilia A Grave sin inhibidor y el grupo control de sujetos sanos, enfatizando la función reguladora de este tipo de subpoblación linfocitaria en la respuesta inmune de los individuos.

REFERENCIAS

- 1.- Marc Jacquemin, Valérie Vantomme, Cécile Buhot and et al; CD 4+ T-cell clones specific for wild-type factor VIII: a molecular mechanism responsible for a higher incidence of inhibitor formation in mild/moderate hemophilia A; *blood* 2003 101: 1351-58.
- 2.- Carol H Miao; Immunomodulation for inhibitors in hemophilia A: the important role of Treg cells; *Expert Rev Hematol.* 2010 August 1; 3(4): 469-83.
- 3.- Christina Hausl, Rafi U. Ahmad, Maria Sasgary and et al; High-dose factor VIII inhibits factor VIII- specific memory B cells in hemophilia A with factor VIII inhibitors; *blood* november 2005, vol 106, 3415-22.
- 4.- SF Stein, BL Evatt, JS McDougal, et al; A longitudinal study of patients with hemophilia: immunologic correlates of infection with HTLV-III/LAV and other viruses; *blood* 1985 66: 973-979.
- 5.- Rebecca Kruse-Jarres; Current Controversies in the Formation and Treatment of Alloantibodies to Factor VIII in Congenital Hemophilia A; *Hematology* 2009: 407-11.
- 6.- Kevin R. Viel, Ph. D., Afshin Ameri, M.D., Thomas C. Abshire, et al; Inhibitors of factor VIII in Black Patients with Hemophilia; *N Engl J Medicine* 2009 16: 1618-26.
- 7.- Cindy Leissinger, M.D., Alessandro Gringeri, M.D., Bülent Antmen, M.D., Anti-inhibitor Coagulant Complex Prophylaxis in Hemophilia with inhibitors; *N Engl J Medicine* 2011 365;18: 1684-91.
- 8.- Claire Philipp; The aging Patient with Hemophilia: Complications, Comorbidities, and Management Issues; *hematology* 2010; 191-97.

- 9.- R Weimer, T Schweighoffer, K Schimpf and G Opelz; Helper and suppressor T – cell function in HIV –infected hemophilia patients; blood 1989 74: 298-302.
- 10.- ME Eyster, CS Rabkin, MW Hilgartner, et al; Human immunodeficiency virus-related conditions in children and adults with hemophilia: rates, relationship to CD 4 counts, and predictive value; blood 1993 81; 828-34.
- 11.- García-Chávez J, Majluf-Cruz A, Montiel-Cervantes L, García-Ruíz Esparza M, Vela-Ojeda J, Rituximab therapy for chronic and refractory immune thrombocytopenic purpura: a long-term follow-up analysis. Ann Hematol 2007. 86(12):871-877.
- 12.- Bromberg ME. Immune thrombocytopenic Purpura The changing Therapeutic Landscape. N Eng J Med 2006;355:1643-45.
- 13.- Beutler Ernest. Hemofilia A y B. En Williams Hematología. Sexta edición. 2005. pp 1650-52.

ANEXO. Hoja de recolección de datos.

Número	Nombre y afiliación	Edad	Tipo y gravedad	Título de inhibidor Unidades Bethesda	Cuenta de NK y NKT x 10 ⁶ /L
1					NK - NKT
2					NK - NKT
3					NK – NKT
4					NK - NKT
5					NK – NKT
6					NK – NKT
7					NK – NKT
8					NK – NKT
9					NK – NKT
10					NK – NKT