



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA
UMAE HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
“DR. ANTONIO FRAGA MOURET”

TESIS

FACTORES ASOCIADOS A HEMORRAGIA EN PACIENTE CON
TROMBOCITOPENIA INMUNE CON RECuentOS
PLAQUETARIOS MENOR A 25 MIL/MM₃

PARA OBTENER EL GRADO DE
ESPECIALISTA EN HEMATOLOGÍA.

PRESENTA

Dr Victor Hugo Pérez Hernández

ASESOR

Dr. Jaime Garcia Chavez

CIUDAD DE MEXICO,

2020.





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.

HOJA DE AUTORIZACION DE TESIS

DR. JORGE VELA OJEDA

Titular Del Curso De Especializacion

DR. JAIME GARCIA CHAVEZ

Asesor

DR. VICTOR HUGO PEREZ HERNANDEZ

Residente de Cuarto Año de la Especialidad de Hematología

Núm. de Registro

R-2020-3501-040

Factores Asociados a Hemorragia en Paciente con Trombocitopenia Inmune con Recuentos Plaquetarios Menor a 25 mil/mm³

Resumen.....	4
Summary.....	5
Introducción.....	6
Material y métodos.....	10
Resultados.....	11
Discusión.....	16
Conclusión.....	17
Bibliografía.....	18
Anexos.....	19

Resumen

Antecedentes: La trombocitopenia inmune primaria (TIP) es una de las principales causas de trombocitopenia en adultos. Las manifestaciones hemorrágicas suelen presentarse con cifras $<25\text{mil}/\text{mm}^3$. La correlación entre el recuento plaquetario y la gravedad del sangrado es débil. La determinación funcional de Factores VIII (FVIII), Von Willebrand (FVW) y el porcentaje de actividad de P-Selectina, podrían aportar información al momento de clasificar estos paciente en riesgos hemorrágicos a pesar de plaquetas $< 25\text{mil}/\text{mm}^3$

Material y métodos: Se realizo cohorte transversal, comparativa, abierta de pacientes portadores de TIP crónica y plaquetas $< 25\text{mil}/\text{mm}^3$, con o sin sangrado. Se realizaron mediciones de FVIII, FVW y actividad de P-Selectina. El análisis estadístico se realizo mediante diferencia de proporciones calculado con la formula de Chi².

Resultados: Se analizaron 25 pacientes, 13 con sangrado y 12 sin sangrado, 48% presentaron niveles de FVIII >209 y FVW >233 , 40% acortamiento del TTPa sobre el valor testigo y 46.7% hiperactividad de P-Selectina activada. No hubo asociación estadística con el fenotipo hemorrágico.

Conclusiones: No se demostró asociación entre los niveles de FVIII, FVW y P-Selectina con el fenotipo hemorrágico, se observaron cambios en las pruebas de función hemostática con tendencia a la hiperactividad como probable mecanismo compensatorio a la trombocitopenia grave.

Palabras claves: Factor VIII, factor Von Willebrand, rebalance hemostático, P-Selectina, trombocitopenia inmune primaria, trombocitopenia grave

Summary

Background: Primary immune thrombocytopenia (TIP) is one of the main causes of thrombocytopenia in adults. Hemorrhagic manifestations usually present with figures $<25\text{mil} / \text{mm}^3$. The correlation between platelet count and bleeding severity is weak. The functional determination of Factors VIII (FVIII), Von Willebrand (FVW) and the percentage of P-Selectin activity, could provide information when classifying these patients in hemorrhagic risks despite platelets $<25\text{mil} / \text{mm}^3$

Material and methods: A cross-sectional, comparative, open cohort of patients with chronic TIP and platelets $<25\text{mil} / \text{mm}^3$ was performed, with or without bleeding. Measurements of FVIII, FVW and P-selectin activity were made. Statistical analysis was performed by difference of proportions calculated with the Chi2 formula.

Results: Twenty-five patients were analyzed, 13 with bleeding and 12 without bleeding, 48% had FVIII levels > 209 and FVW > 233 , 40% shortening of TTPa over the control value and 46.7% hyperactivity of activated P-Selectin. There was no statistical association with the hemorrhagic phenotype.

Conclusions: No association was demonstrated between the levels of FVIII, FVW and P-Selectin with the hemorrhagic phenotype, changes in hemostatic function tests with a tendency to hyperactivity were observed as a probable compensatory mechanism for severe thrombocytopenia.

Keywords: Factor VIII, von Willebrand factor, hemostatic rebalance, P-Selectin, primary immune thrombocytopenia, severe thrombocytopenia

Introducción:

La trombocitopenia inmune primaria (TIP) es una de principales causas de trombocitopenia en adultos asintomáticos, es causada por auto anticuerpos contra antígenos plaquetarios. Se define como un recuento plaquetario menor a 100 mil/mm³ sin otras alteraciones en la biometría hemática, no asociado a otra patología. La TIP grave es aquella en la que paciente presenta síntomas hemorrágicos suficientes para requerir tratamiento, lo cual típicamente ocurre por debajo de 20 mil plaquetas (1). En una época en la que las técnicas moleculares toman cada vez mas importancia en el diagnostico, pronostico y tratamiento de las enfermedades homológicas, como en el caso de las leucemias agudas, la clasificación de la trombocitopenia inmune primaria se basan en descripciones realizadas hace mas de treinta años sin existir una diferencia en relación al perfil hemorrágico de esto pacientes. (15)

El sangrado debido a trombocitopenia puede ocurrir en hasta dos tercios de los pacientes. Típicamente en la piel o las membranas mucosas, un patrón denominado sangrado "de tipo plaquetario". La gravedad es variable, siendo mas frecuente la hemorragia leve caracterizada por petequias en zonas de mayor presión, hasta hemorragia grave que comprometa la vida. En contraste con los hallazgos más comunes de petequias y púrpura, la hemorragia más grave, como la hemorragia intracraneal, el sangrado gastrointestinal, el sangrado menstrual grave y la hematuria, es poco frecuente.

Una revisión sistemática realizada en el año 2015, que incluyó 5336 adultos con TIP demostró que solo el 1.4% presento hemorragia intracraneal y 9.6% presento otro tipo de hemorragia grave, la mayoría de estos tenían TIP crónica (6). Algunos de los factores predictivos de hemorragia conocidos incluyen el grado de trombocitopenia (de <10,000 a <20,000), hemorragia leve previa, uso de antiinflamatorios no esteroides (AINE), sexo femenino y TIP crónica (es decir, diagnóstico > 12 meses antes). La frecuencia de hemorragias graves también puede aumentar con la edad y

las comorbilidades (6). Los pacientes con trombocitopenia más grave tienen más probabilidades de tener sangrado sin embargo en aquellos con trombocitopenia grave las probabilidades de sangrando se vuelven difíciles de predecir. La correlación entre el recuento de plaquetas y el riesgo de sangrado es débil. Existen pocos datos que describan el riesgo de sangrado clínicamente importante en los diferentes niveles de trombocitopenia. Esta escasa relación entre el conteo plaquetario y la tendencia hemorrágica se debe a múltiples factores dentro de los que destaca la funcionalidad plaquetaria y la capacidad de la medula ósea para continuar produciendo plaquetas jóvenes con mayor eficacia hemostática.

En los pacientes hepatopatas las pruebas hemostáticas como el recuento plaquetario, el TP y el TTPa se encuentran alteradas, condicionando que la interpretación aislada de estos se considere como factores predictivos de sangrado, generando un sobretratamiento médico principalmente previo a la realización de procedimientos quirúrgicos con la intención de normalizar estas alteraciones, en algunas ocasiones este intento de “corregir los laboratorios” pueden condicionar un mayor riesgo de trombosis o sangrado. Desde el año 2010, Lisman y su equipo definió el término de reequilibrio hemostático a las alteraciones presentadas en estos pacientes (13). En el año 2015 Won Ho Kim propone el reequilibrio del estado de la coagulación en el paciente con TIP, similar al reequilibrio presentado en los pacientes con insuficiencia hepática. En dicho estudio se analizaron 20 pacientes con TIP con recuentos plaquetarios menores a 50mil, se midieron los niveles de Factor de Von Willebrand y se evaluó la hemostasia mediante TEG, se realizó seguimiento de 6 meses(10). El 40% de los pacientes (Ocho pacientes) presentaban niveles de FVW antigénico más alto (218% vs 126%, $p=0.007$) estos tenían mayor tiempo de evolución de la enfermedad (67 meses vs 33 meses, $p=0.028$), además presentaban un Tiempo de Formación del Coagulo más corto (287 vs 561, $p=0.042$) y un ángulo Alfa mayor (49 vs 34, $p=0.033$) en el TEG a pesar de no tener un recuento plaquetario diferente. No hubo pacientes con hemorragia importante durante el periodo de seguimiento. Cuatro mostraron eventos de sangrado menor (1 con FVW elevados vs 3 con FVW normal). Se encontró que los niveles de FVW antigénico se encontraban elevados en los

pacientes con TIP de más tiempo de evolución y a su vez estos presentaban mejores parámetros en el TEG. Por lo que se asume que estos pacientes con TIP lograron un reequilibrio hemostático a través de la elevación de los niveles de FVW antigénico en plasma favoreciendo cambios que promueven la trombosis. Si bien la muestra analizada en este estudio es pequeña los resultados que arroja evidencian un rebalanceo hemostático previamente no descrito en la literatura, sin embargo otros factores no explorados en este estudio son los hallazgos en las pruebas coagulométricas (TTPa) y los niveles de Factor VIII (el cual se encuentra ampliamente ligado a el FVW).

La citometría de flujo es una técnica con gran potencial analítico, que reside principalmente en la posibilidad de medir diversos parámetros en decenas de millares de células individuales en pocos segundos. Básicamente el citómetro de flujo mide propiedades de absorción y dispersión de luz por la célula o partículas subcelulares, y la fluorescencia emitida por fluorocromos unidos a componentes celulares de interés, inducidas por una iluminación apropiada. Permite determinar rápidamente características específicas de un gran número de células individuales, tiene la ventaja de permitir analizar poblaciones plaquetarias en que las plaquetas son evaluadas una a una, posibilitando la identificación de subpoblaciones, mientras que los otros métodos reflejan la activación media de la población plaquetaria. Frelinger y colaboradores evaluaron la relación entre el cuadro clínico de sangrado y la función plaquetaria por citometría de flujo en 57 pacientes con TIP pediátrica, demostraron que los niveles mas altos de Gp IIb-IIIa y P-Selectina post estimulación con péptido activador del receptor de trombina (TRAP) se asociaron significativamente con puntuaciones de sangrado mas bajas con una P respectiva de $P=0.0002$ y $P=0.0011$. Sin embargo niveles más altos de P-Selectina en las plaquetas no estimuladas se asociaron con puntuaciones mas altas de sangrado además de presentar una activación inducida por agonistas menor ($P= 0.0008$). Así como niveles de GIIb elevados en plaquetas circulantes de pacientes con altas puntuaciones de sangrado. La superficie plaquetaria GIIb con y sin estimulación in vitro fue mayor en pacientes con puntajes de sangrado más altos ($P=<0.5$) (14)

En la practica medica diaria hemos evidenciado algunas alteraciones en las pruebas coagulometricas de los pacientes con TIP, específicamente un acortamiento en el tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa), después de búsquedas intencionadas en buscadores médicos como PudMed o MedLine no hemos logrado una descripción de dicha alteración, ya se epidemiológica o fisiopatológica en la literatura.

Por lo anteriormente comentado, y con la escasa literatura descrita en este tema se considera de suma importancia la realización de estudios que generen información que permita tomar decisiones terapéuticas en paciente con trombocitopenia grave, y sentar las bases para posteriores estudios en paciente con trombocitopenia asociada a malignidad y como efecto de la mielosupresión postquimioterapia. Este estudio pretende encontrar la proporción de pacientes con trombocitopenia inmune crónica y plaquetas menor de 25 mil/mm³ con hemorragia y la medición de los niveles funcional del Factor VIII y Factor de Von Willebrand mayores 150% así como los niveles de P-Selectina mayores al 60%, los cuales al no depender del recuento plaquetario pueden ser de utilidad al momento de clasificar a los paciente con TIP en grupos de menor y mayor riesgo hemorrágico de acuerdo a las variables establecidas en este estudio

Material y Métodos

Se realizó cohorte transversal, comparativa, abierta de paciente con trombocitopenia grave asociada a TIP, con y sin datos de sangrado, tratados en el servicio de Hematología de forma hospitalaria o en la Consulta Externa, del Centro Medico Nacional La Raza, en el periodo comprendido entre noviembre del 2019 y enero del 2020.

Selección de pacientes:

Se incluyeron paciente mayores de 16 años de edad, de ambos sexos con diagnóstico de trombocitopenia inmune primaria crónica que al momento de la consulta o valoración presentaran trombocitopenia menor a 25 mil sin haber recibido transfusiones plaquetarias en los últimos siete días, se dividieron en dos grupos basado en el fenotipo hemorrágico (Sangrado presente y sin sangrado)

Recolección de datos:

Basado en la formula de diferencia de proporciones se calculo una n de 13 pacientes para cada grupo, se recolectaron dos muestras de 5ml de sangre periférica en tubos de citrato por paciente, boteniendose plasma rico en plaquetas para la realización de citometría de flujo plaquetario con medición de la actividad de P-Selectina, Ib-Xa y IIb-IIIa. Y plasma pobre en plaquetas para la medición funcional de factores VIII, FVW, fibrinógeno y pruebas coagulometricas (TP, TTPa).

Análisis estadístico:

Se realizo el análisis estadístico mediante la Diferencia de Proporciones calculado con la formula de Chi², buscando la asociación estadística entre el grupo de sangrado y no sangrado con la proporción de pacientes con niveles superiores a los limites establecido para la población general de la densidad media del receptor P-Selectina activada, niveles funcionales de Factor VIII y Factor Von Willebrand Antigénico. Se utilizo un nivel de significancia correspondiente a un riesgo medio ($\alpha=0.05$), permitiendo una probabilidad de equivocación del 5%, manteniendo una confiabilidad del 95%.

Resultados

De un total de 144 pacientes con el diagnóstico de trombocitopenia inmune primaria atendidos en la Clínica de Hemostasia del Centro Médico Nacional La Raza, se seleccionaron 25 pacientes, basado en el cálculo realizado mediante la fórmula para la diferencia de proporciones, los cuales al momento de la consulta o valoración médica contaban con cifras de plaquetas menores a 25mil/mm³, sin haber recibido transfusión de unidades o aféresis plaquetarias, con o sin datos de sangrado. Las características generales de los pacientes se muestran en la tabla 1.

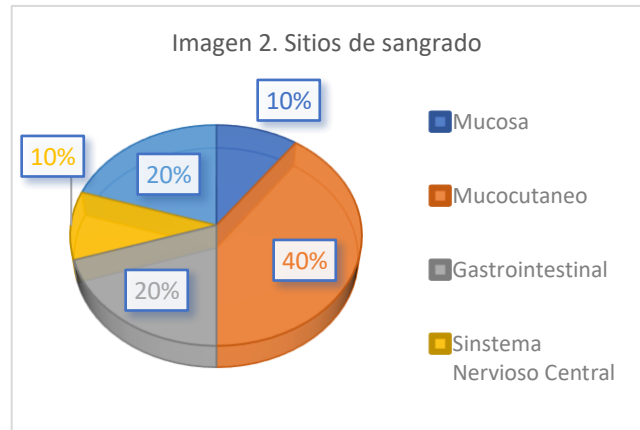
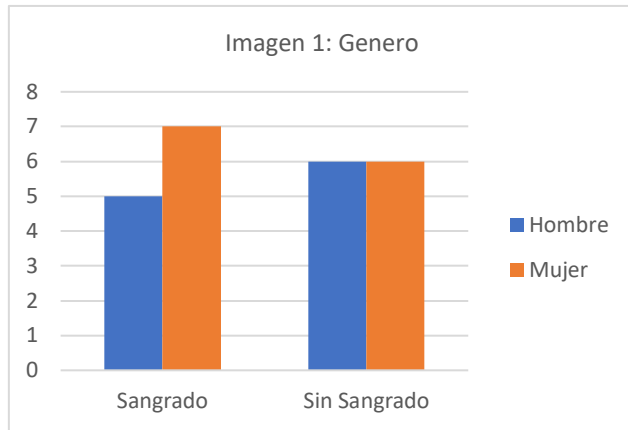
Del total de pacientes, 13 presentaban datos clínicos de sangrado y 12 no presentaban ninguna sintomatología hemorrágica.

No hubo diferencia estadística en relación al sexo (Imagen 1), la edad media fue de 46 años para el grupo de sangrado y 52 años para el grupo sin sangrado.

De las comorbilidades presentes en ambos grupos se observó la presencia de trombosis en el 16.7%, correspondiente a dos individuos que pertenecen al grupo de no sangrado, si bien suena lógico pensar que el diagnóstico de estos pacientes correspondería a otras patologías como SAAF u otras patologías autoinmunes, previamente todos contaban con pruebas de escrutinio negativas y se realizó la

TABLA 1. Características generales

Variable	Pacientes con sangrado	Pacientes sin sangrado
Sexo	Hombre (n,%)	6 (46.2)
	Mujer (n,%)	6 (50)
Edad (años) (media, rango)	46.3 (29-79)	52.5 (30-72)
Tipo de sangrado	Cutáneo (n,%)	3 (23.1)
	Mucosa (n,%)	1 (7.7)
	Mucocutáneo (n,%)	4 (30.8)
	Gastrointestinal (n,%)	2 (15.4)
	Sistema Nervioso Central (n,%)	1 (7.7)
	Sangrado Transvaginal (n,%)	2 (15.4)
Grados de Sangrado	Grado 0 (n,%)	12 (100)
	Grado 1 (n,%)	6 (46.2)
	Grado 2 (n,%)	7 (53.8)
Comorbilidades	Hipotiroidismo (n,%)	1 (7.7)
	Hipertensión Arterial Sistémica (n,%)	1 (7.7)
	VIH (n,%)	1 (8.3)
	Trombosis (n,%)	2 (16.7)
	Gastritis Crónica (n,%)	1 (8.3)
	Uso de esteroides	Si (n,%)
Otros tratamientos	No (n,%)	9 (75)
	Rituximab (n,%)	2 (15.4)
	Danazol (n,%)	3 (25)
	Azatioprina (n,%)	4 (30.8)
	Ciclosporina (n,%)	1 (7.7)
	Esplenectomía	3 (23.1)
	Previa (n,%)	2 (16.7)



búsqueda de anticoagulante lupico, anticardiolipinas y b2 glicoproteína de forma intencionada en estos pacientes con resultados negativos.

El grado de sangrado se clasificaron con la escala de Buchanan y Adix (12), en grados del 0 al 2 (tabla 2), siendo el grado 2 el mas frecuente (53.8%) en el grupo de pacientes con fenotipo hemorrágico. Los diferentes sitios de sangrado se muestran

Tabla 2. Grados de sangrado (Modificado de Buchanan y Adix)

Sitio	0	1	2
<i>Piel</i>	Ninguno	1-5 hematomas y/o petequias dispersas	>5 hematomas con tamaño mayor a 2cm y/o petequias difusas
<i>Oral</i>	Ninguno	1 ampolla de sangre o > 5 petequias y/o gingivorragia <5 min	Multiples ampollas de sangre y/o gingivorragia >5 min
<i>Epistaxis</i>	Ninguno	Sangrado al sonarse la nariz y/o epistaxis <5 min (por episodio)	Sangrado >5 min (por episodio)
<i>Gastrointestinal</i>	Ninguno	Sangre oculta	Sangrado evidente
<i>Urinario</i>	Ninguno	Microscopica (+ en labstick)	Macroscopica
<i>Ginecologico</i>	Ninguno (Periodo normal)	Manchado que no corresponde al periodo	Sangrado > aun manchado que no corresponde al periodo
<i>Pulmonar</i>	Ninguno	N/A	Si
<i>Hemorragia Intracraneal</i>	Ninguno	N/A	Si
<i>Hemorragia Subconjuntival</i>	Ninguno	Si	N/A

en la imagen 2, con predominio del sangrado a nivel mucocutánea (40%), el sangrado a sistema nervioso central se presento en un 7.7% siendo la presentación mas agresiva.

Los resultados de laboratorios de todos los pacientes se resumen en la tabla 3. La mediana del recuento plaquetario automatizado para el grupo con sangrado fue de 7.4mil/mm³ y para el grupo sin sangrado de 14.1mil/mm³, la media del volumen plaquetario fue de 10.4 y 10.5 para cada grupo respectivamente sin observarse variaciones respecto a los rangos de normalidad.

TABLA 3. Pruebas de laboratorio por grupo

Variable	Total de la muestra	Pacientes con sangrado	Pacientes sin sangrado	P valor
<i>Cifras de plaquetas (media, rango)</i>	10,6 (1-25)	7.4 (1-19)	14.1 (6-25)	
<i>Volumen plaquetario (media, rango)</i>	10,5 (8-16)	10.4 (8-12)	10.5 (8-16)	
<i>Valor de TP sobre el testigo (media, rango)</i>	1,4 (-.8 a 10.2)	1.9 (-.3 a 10.2)	1 (-0.8 a 2.6)	
<i>Valor de TTP sobre el testigo (media, rango)</i>	2,3 (-9.1 a 32.7)	4.8 (-4.8 a 32)	-0.43 (-9.1 a 6.3)	
<i>Valor de TT sobre el testigo (media, rango)</i>	2,1 (-1.3 a 12)	1.5 (-.1 a 5.5)	2.7 (-1.3 a 12)	
<i>Fibrinogeno (media, rango)</i>	306, (154 - 408)	315 (154-408)	296 (197-408)	
<i>Factor VIII (media, rango)</i>	147,9 (55 - 366)	150 (60-366)	145 (55 - 318)	0.32
<i>Factor Von Willebrand Antigenico (media, rango)</i>	163,2 (50 - 401)	169 (50-401)	159 (50 - 246)	0.32
<i>Porcentaje de actividad Gp IIb (media, rango)</i>	64,8 (28.8 - 86.6)	67.6 (38.1-86.6)	61.6 (28.8 - 85.7)	
<i>Porcentaje de actividad Gp IIIa (media, rango)</i>	48.2 (8.5 - 78.9)	50.3 (8.5-78.9)	45.8 (13 - 69.2)	
<i>Porcentaje de actividad Gp IX (media, rango)</i>	43.8 (4.4 -76.9)	47.6 (4.4-76.9)	39.4 (11.7 - 67.3)	
<i>Porcentaje de actividad P-Selectina sin activar (media, rango)</i>	2.8 (0.5 - 9.3)	2.5 (1.1-5.6)	3.2 (0.5 - 9.3)	
<i>Porcentaje de actividad P-Selectina activada (media, rango)</i>	15.3 (2.2 - 39)	17.2 (2.2-39)	13.1 (5.1- 18.9)	0.447

Los niveles de fibrinógeno se mantuvieron dentro de rangos normales de 154 a 408mg/dl para el grupo con sangrado y 197 a 408mg/dl para el grupo sin sangrado.

Respecto a las pruebas coagulometricas se reportan como la diferencia entre el valor del plasma testigo y valor del plasma problema, el valor de los factores de coagulación se reporta en porcentaje de funcionalidad. Los resultados de la citometría de flujo plaquetaria se reportan en porcentaje de actividad.

En el primer análisis (Tabla 4) se observan valores Factor VIII y Factor de Von Willebrand por encima de los rangos de normalidad en 48% de los pacientes con niveles promedios de 209% y 233% respectivamente, mientras que de la porción analizada mediante citometría de flujo el 46.7% presentan niveles de P-Selectina Activa superiores en el 46.7% con una media de 22.9, y hasta el 40% de los pacientes tuvieron determinaciones de TTPa menores al testigo con un media de -3.4 segundos.

Tabla 4. Valores superiores a rango de normalidad

<i>Valores</i>	<i>Porcentaje de la muestra</i>	<i>Media</i>	<i>Mediana</i>	<i>Rango</i>
<i>Niveles de Factor VIII >150</i>	48%	209	182	150-366
<i>Niveles de Factor Von Willebrand >140</i>	48%	233	203	160-401
<i>Porcentaje de P-Selectina activada >15%</i>	46.7%	22.9	18.9	15.4-39
<i>TTPa sobre testigo < 1</i>	40%	-3.41	-3.25	-0.1 a -4.7

Una vez realizado el análisis por grupos (sangrado y no sangrado, Tabla 3), observamos una media para el TTPa del grupo sin sangrado – 0.43, mientras que en el grupo con sangrado se observa una media de 4.8.

Los niveles de actividad del Factor VIII se encontraron en límites superiores para la población general (Factor VIII rango de 50 – 150%), con una media de 150% para el grupo con sangrado y de 145% para el grupo sin sangrado. En cuanto a los niveles de Factor de Von Willebrand Antigénico ambos grupos presentaron niveles superiores a la población general (Factor Von Willebrand Antigénico rango de 51-140%), con una media de 169% para el grupo con sangrado y 159% para el grupo sin sangrado.

A pesar de las diferencias observadas respecto a la población general, no existe una asociación estadística entre los niveles elevados de Factor VIII o Factor de Von Willebrand Antigénico y el cuadro clínico de sangrado sin poder rechazar la primera y segunda hipótesis nula de este estudio, con una Chi-cuadrada calculada de 0.987 para la hipótesis uno y 0.987 para la hipótesis dos (Chi-cuadrada crítica de 3.841 para ambas hipótesis) y un P valor de 0.32 y 0.32 respectivamente.

En cuanto a la citometría de flujo plaquetaria se tuvo una pérdida de 10 muestra debido a la imposibilidad técnica de procesar dichas muestras por ausencia de células a analizar, de estas, 5 pertenecían al grupo de pacientes con sangrado y 5 al grupo sin sangrado. A pesar de eso se observó una media por encima de la población general para los niveles de actividad de P-Selectina postactivación (Valor máximo hasta de 15% en la población sana) con una media de 17.2% en el grupo de fenotipo hemorrágico. Sin embargo sin poder rechazar la tercer hipótesis nula obteniéndose una Chi-cuadrada calculada de 0.57 con un P valor de 0.447.

Discusión.

La trombocitopenia inmune primaria es una de las principales causas de trombocitopenia asintomática en adultos, es causada por autoanticuerpos contra antígenos plaquetarios, generando destrucción a nivel periférica y esplénica, definiéndose como un recuento plaquetario menor a 100mil/mm³ sin otras alteraciones en la biometría hemática ni otras patologías condicionantes. Se clasifica como grave aquellos pacientes con datos clínicos de sangrado o cifras de plaquetas menores a 25mil/mm³, y crónica cuando la enfermedad se presenta por mas de un año después diagnóstico. El sangrado a cualquier nivel es la principal manifestación clínica y ocurre en dos tercios de los pacientes, un cuadro clínico que va desde lesiones confinadas a piel y mucosas hasta hemorragia del sistema nervioso central la cual se presenta en el 2% de los pacientes, el riesgo incrementa cuando las cifras de plaquetas son menores a 20mil/mm³, sin embargo aquellos paciente con trombocitopenia grave las probabilidades de sangrado se vuelven difícil de predecir, la correlación entre el recuento de plaquetas y el riesgo de sangrado es débil. A pesar de los múltiples avances en técnicas moleculares con fines diagnósticos y pronósticos en otras áreas de la hematológicas, la clasificación del riesgo hemorrágico en estos pacientes sigue siendo desconocido así como los mecanismo fisiológicos que evitan la hemorragia en estos pacientes a pesar de las cifras tan bajas de plaquetas.

Se estudiaron veinticinco paciente portadores de trombocitopenia inmune primaria crónica con cifras plaquetarias menores a 25mil/mm³ atendidos en el Centro Medico Nacional La Raza, de los cuales trece presentaban datos clínicos de sangrado y doce no presentaban ningún síntoma hemorrágico, observamos que en el grupo de sangrado los principales sitios afectados fueron piel y mucosas en el 61% y solo el 8% presento sangrado a nivel de sistema nervioso central, de manera muy similar a lo reportado en la literatura. La presencia de eventos tromboticos se documento en el 17% de los pacientes los cuales pertenecían al grupo de no sangrado. Los resultados mas importantes se evidenciaron en las pruebas de coagulación, tanto acortamiento en las mediciones del tiempo de tromboplastina parcial activada, el aumento de las

cifras funcionales de factor VIII, de factor Von Willebrand Antigénico y la actividad plaquetaria medida por P-Selectina.

De manera similar a los resultados descritos por el estudio de Won Ho Kim (10) en el cual se observó cifras de FVW superiores a las cifras de normalidad en el 40% de los pacientes, con valores de FVW de hasta el 218% y una correlación con el fenotipo no hemorrágico ($p=0.007$), en nuestro estudio observamos estos cambios en el 48% de la muestra y cifras de FVW de hasta 401%, sin embargo la correlación entre el grupo de sangrado y no sangrado no pudo ser establecida ($p=0.320$). Se observó un efecto similar para los niveles de FVIII el cual se encontró por encima de los valores establecidos en el 48% la muestra analizada, con cifras máximas de FVIII del 366%, sin poder correlacionarse con el cuadro clínico hemorrágico ($p=0.320$).

En cuanto a los resultados de las pruebas de función plaquetaria por citometría de flujo se observó un aumento de la activación plaquetaria medida por P-Selectina activada en el 46.7% de la muestra, sin poder establecer una correlación estadística con el grupo de no hemorragia ($p=0.477$), contrario a lo descrito el estudio de Frelinger (14) en el cual los niveles más altos de P-Selectina se asociaron con menores tasas de sangrado ($p=0.0011$).

Estos hallazgos representan mecanismos poco estudiados hasta el momento en los pacientes con trombocitopenia inmune primaria. Sin embargo, debido a la pequeña muestra analizada, los resultados no pudieron demostrar una asociación estadística entre el fenotipo no hemorrágico y las pruebas utilizadas. No podemos asegurar mediante este estudio que los datos de hiperactividad plaquetaria o la elevación de los factores hemostáticos favorecen una menor tendencia hemorrágica.

Estos resultados nos abre las puertas a un nuevo campo de estudio en los pacientes con trombocitopenia, siendo una base para futuros estudios que puedan ayudar a contestar preguntas como ¿por qué la mayoría de los pacientes con TIP no sangran a pesar de cifras plaquetarias tan bajas?, ¿por qué presentan mayores probabilidades de eventos tromboticos sobre la población general ?, ¿cuáles son los mecanismo por los cuales se generan estos cambios? ¿confieren algún valor pronostico para el riesgo de sangrado o trombosis? Y ¿cuáles es el comportamiento de los demás factores hemostáticos y fibrinolíticos en estas patologías?

Conclusiones.

No logramos demostrar la asociación entre los niveles de factor VIII, factor de Von Willebrand Antigénico y P-Selectina con la presencia o ausencia de sangrado debido a la pequeña muestra analizada, sin embargo se observaron cambios en las pruebas hemostáticas y de actividad plaquetaria con tendencia a la hiperactividad en ambas pruebas como un probable mecanismo compensatorio a la trombocitopenia grave (rebalance hemostático), por lo que este trabajo servirá como base para futuros estudios en el campo de la hemostasia en el contexto de situaciones patológicas.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Cines DB, Blanchette VS. Immune thrombocytopenic purpura, *N Engl J Med.* 2002; 346(13):995.
2. Patel VL, Schwartz J, Bussel JB. The effect of anti-CD40 ligand in immune thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol.* 2008; 141(4):545.
3. Fabris F, Scandellari R, Ruzzon E, Randi ML, Luzzatto G, Girolami A. Platelet-associated autoantibodies as detected by a solid-phase modified antigen capture ELISA test (MACE) are a useful prognostic factor in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood.* 2004; 103(12):4562.
4. Alvarado-Ibarra M y col. Trombocitopenia inmunitaria primaria. *Rev. Hematol Mex.* 2016 October; 17(4):268-286.
5. Luis Antonio Meillón-García, Jaime García-Chávez, David Gómez-Almaguer. Trombocitopenia inmune primaria (TIP) del adulto en México: características nacionales y su relación con la literatura internacional. *Gaceta Médica de México.* 2014;150:279-88
6. Neunert C, Noroozi N, Norman G, Buchanan GR, Goy J, Nazi I, Kelton JG, Arnold. Severe bleeding events in adults and children with primary immune thrombocytopenia: a systematic review. *J Thromb. Haemost.* 2015; 13 (3): 457. E pub 2015 14 de enero.
9. Monteiro María-do-Céu, Martínez Marcial, O'Connor José Enrique. La citometría de flujo en el análisis funcional de las plaquetas: II. Aplicaciones clínicas. *Rev Diagn Biol.* 2002 Sep; 51(3): 87-99

10. Won Ho Kim. Rebalanced hemostasis in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Platelets* 2015; 1369-1635
11. E. Gunduz. Can thrombelastography be a new tool to assess bleeding risk in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura?. *Platelets*, November 2011; 22 (7)
12. Lemke K. Page. The immune thrombocytopenic purpura bleeding score. *British Journal of Hematology*. Abril 2007. 138, 245-248.
13. Lisma T, Porte RJ. Rebalanced hemostasis in patients with liver disease: evidence and clinical consequences. *Blood* 2010 116:878-885
14. Andrew L. Frelinger. Platelet function tests, independent of platelet count, are associated with bleeding severity in ITP, *Blood* 2015 august 13, 126: 873-879