

Comunicaciones Orales

XIII Congreso del Grupo CAHT



CO1	VARIANTES GENÉTICAS RELACIONADAS A ENFERMEDAD TROMBOEMBÓLICA VENOSA. RESULTADOS PRELIMINARES DEL PRIMER ESTUDIO EN UNA COHORTE ARGENTINA.
CO2	ROL DE LOS TLRS EN LA MEGACARIO/TROMBOPOYESIS
CO3	INHIBIDORES EN HEMOFILIA B: EXPERIENCIA ARGENTINA
CO4	NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS PHI NEGATIVAS: INFLUENCIA DEL TRATAMIENTO EN EL TAMAÑO PLAQUETARIO Y SU POSIBLE RELACIÓN CON INCIDENCIA DE TROMBOSIS

<p>VARIANTES GENÉTICAS RELACIONADAS A ENFERMEDAD TROMBOEMBÓLICA VENOSA. RESULTADOS PRELIMINARES DEL PRIMER ESTUDIO EN UNA COHORTE ARGENTINA. Aranda F, Ceresetto J, Duboscq C, Perés S, Moiana M, Lucero A, Casais P, de Larrañaga G. Hospital de Infecciosas "Francisco J. Muñiz" y Hospital Británico de Buenos Aires, CABA, Argentina.</p> <p>La Enfermedad Tromboembólica Venosa (ETV) es una patología multifactorial, con factores de riesgo genéticos y circunstanciales. La identificación de variantes genéticas protrombóticas y su combinación con otros factores podrían ser útiles para desarrollar "scores predictivos" para identificar grupos de riesgo. El objetivo fue analizar si las variantes genéticas descritas como de riesgo protrombótico, Fibrinógeno Gamma (FGG) 10034T y FXI7872C, y la aún no estudiada ADNasa1-Q222R, solas o combinadas con trombofilia genética (Factor V Leiden (FVL) y Protrombina 20210A (H20210A)) se asocian a una mayor susceptibilidad a desarrollar ETV. Se han reclutado 149 pacientes con ETV y 146 controles, de los 400 de cada grupo esperados. La distribución por sexos y la mediana de edad fueron significativamente diferentes ($p < 0.05$) entre casos y controles. Los casos eran de mayor edad que los controles (mediana: 63 años [49-73] vs 42 años [31-50], respectivamente) y 63% eran hombres (vs 50,3% en controles). La frecuencia de FVL en pacientes con ETV (14,1%) fue significativamente mayor respecto del grupo control (2,7%, $p = 0,001$), mientras que observamos una tendencia no significativa a mayor frecuencia de H20210A (9,4% vs 4,1%, $p = 0,084$) en los pacientes con ETV. No encontramos diferencias significativas en las distribuciones genotípicas de las variantes FGG10034C/T, FXI7872C/T y ADNasa1-Q222R entre los grupos con ETV y control, aunque se observó cierta tendencia para FGG10034C/T (C/C:56,8% vs 69,9%; C/T:35,1% vs 26,0; T/T:8,1% vs 4,1%) y FXI7872C/T (C/C:30,9% vs 22,6%; C/T:52,3% vs 54,1%; T/T:16,8% vs 23,3%). Bajo un modelo alélico dominante, el alelo FGG10034T estaría asociado ($p = 0,02$) a ETV, mientras que la distribución de FXI7872C/T no evidenció diferencias significativas bajo ningún modelo de dominancia alélica. Pese a que mediante regresión logística, la sola portación del alelo FGG10034T mostró una leve asociación (OR 1,60 [1,09-2,37]), en el análisis de Reducción de la Multidimensionalidad observamos que no habría interacción entre las variantes genéticas y que los efectos de FVL y de FGG10034T podrían ser redundantes. Otro análisis de regresión logística diferente mostró que ser portador de FVL, acompañado o no de FGG10034T, aumentaría significativamente el riesgo de ETV (OR=13,24 [1,66-105,75]; $p = 0,015$ y OR=8,15 [1,01-66,13]; $p = 0,05$, respectivamente), mientras que la sola portación de FGG10034T no haría. No obstante, en un análisis preliminar, considerando los genotipos de riesgo descriptos en otros estudios, encontramos que los pacientes con ETV presentaron mayores sumas de dichos genotipos. Estos resultados serían promisorios al evidenciar que la combinación de variantes genéticas de riesgo podría mejorar el valor predictivo de modelos de susceptibilidad a ETV.</p>	CO1
---	------------

<p>ROL DE LOS TLRs EN LA MEGACARIO/TROMBOPOYESIS D'Atri LP¹, Pozner RG¹, Miguel CP¹, Rodríguez CS¹, Torres OW², Heller P³ y Schattner M¹. ¹Instituto de Medicina Experimental (IMEX-CONICET-ANM), Buenos Aires, Argentina. ²Hospital Materno Infantil Ramón Sardá, Buenos Aires, Argentina. ³Instituto de Investigaciones Médicas Alfredo Lanari, Universidad de Buenos Aires UE IDIM-CONICET, CABA, Argentina.</p> <p>Las infecciones por bacterias o virus pueden cursar con trombocitopenia o trombocitosis. Si bien ambas respuestas son frecuentes en la práctica clínica, los mecanismos patogénicos no están esclarecidos. En las plaquetas, los receptores tipo Toll (TLRs), que permiten el reconocimiento de patógenos, amplifican la respuesta inmune innata del huésped frente a infecciones. Sin embargo, el efecto de la activación de los TLRs a nivel medular sobre la megacario/trombopoyesis es poco conocido. En un modelo de megacario/trombopoyesis humana <i>in vitro</i>, se evaluó el efecto de la activación de los TLR2 y 4 (reconocedores de bacterias Gram positivas y negativas respectivamente) o TLR7 y 8 (detectan componentes virales). La estimulación de células CD34+ de cordón umbilical con Pam3csk4, o con lipopolisacárido (LPS 100 ng/ml, ligandos del TLR2 y TLR4 respectivamente) resultó en la muerte del cultivo. Sin embargo, en presencia de tromboxetina (TPO, 50 ng/ml), ambos agonistas aumentaron la proliferación celular (TPO:71±6; TPO+LPS:123±13*; TPO+Pam3csk4:133±13* x10³ células, *$p < 0.05$ vs. TPO, n=6). Si bien se observó una leve pero significativa disminución en la diferenciación al linaje megacario/citocito (% células CD61+), el número de megacariocitos, el grado de maduración (% células CD42b+), el número de proplaquetas y plaquetas (TPO+LPS:4,2±0,9*; TPO+Pam3csk4:2,9±0,6* veces de TPO, *$p < 0.05$ vs. TPO, n=6) al final del cultivo, fue mayor que con TPO. En concordancia se observó una mayor migración nuclear del NF-κB (inmunofluorescencia). Los efectos del LPS y del Pam3csk4 fueron revertidos en presencia de inhibidores de las vías de señalización PI3K/AKT o NF-κB y ambos agonistas indujeron la síntesis de IL-6 a lo largo del cultivo (TPO: 0±0; TPO+LPS: 69±19*; TPO+Pam3csk4: 86±16* pg/ml, *$p < 0.05$ vs TPO, n=6, ELISA). Mientras que las CD34+ expresaron TLR7 y no TLR8, los megacariocitos mostraron ambos receptores (RT-PCR). La estimulación de CD34+ con Imiquimod (2 μg/ml), ligando del TLR7 y de uso clínico como inmunomodulador, disminuyó la proliferación (TPO:113±11; TPO+Imiquimod:60±9* x10³ células, *$p < 0.001$ vs. TPO, n=7) y la producción de proplaquetas y plaquetas (0,28±0,08 veces de TPO) sin afectar la diferenciación o maduración de los megacariocitos. Sin embargo, la estimulación con otro agonista del TLR7 no tuvo efecto. El tratamiento de megacariocitos inmaduros con un agonista del TLR8 no presentó alteraciones cuali ni cuantitativas en el desarrollo o en la producción de plaquetas (n=3). Nuestros datos sugieren que el reconocimiento directo de patógenos por TLRs en células CD34+ podría ser responsable de las trombocitosis durante los procesos infecciosos y que el Imiquimod inhibe la megacario/trombopoyesis independientemente del TLR7.</p>	CO2
---	------------

<p>INHIBIDORES EN HEMOFILIA B: EXPERIENCIA ARGENTINA Neme D, Cocca A, Elhelou L, Honnorat E, Primiani L. Fundación de la Hemofilia. CABA, Argentina</p> <p>Introducción: La incidencia de los inhibidores en pacientes con hemofilia B (He B) es significativamente más baja que en los pacientes con hemofilia A. Además del fracaso de la terapia sustitutiva, los inhibidores anti-FIX pueden relacionarse a reacciones alérgicas o anafilácticas que incrementan la morbilidad de los pacientes y determinan que la inmunotolerancia sea un tratamiento riesgoso. El objetivo del estudio es analizar las características asociadas al desarrollo de inhibidores anti-FIX.</p> <p>Materiales y métodos: evaluación retrospectiva de los pacientes con hemofilia B, nacidos entre los años 2000 y 2017, registrados en nuestra Institución.</p> <p>Resultados: en una población de 106 pacientes con He B nacidos en la fecha analizada, 76 pacientes (71%) tenían He B severa. La presencia de inhibidor se registró en 8 pacientes. En 6 pacientes el inhibidor fue de alta respuesta (AR). Todos los pacientes con inhibidor tenían He B severa. Tres pacientes tenían hermanos con hemofilia, pero en ninguno había antecedentes familiares de inhibidor. La edad promedio al diagnóstico de inhibidor fue de 26,6 meses (7-52). En 5 pacientes el diagnóstico se realizó antes de los 20 días de exposición (DE). En los 3 restantes, el inhibidor apareció luego de los 50 DE, en 2 durante tratamiento de profilaxis. Seis pacientes presentaron reacciones de alergia/anafilaxia (3 en forma simultánea a la detección del inhibidor y 3 con las reacciones previas a la detección del inhibidor). Un paciente sin antecedente de reacción alérgica y con inhibidor de AR, realizó inmunotolerancia (IT) lográndose la erradicación del inhibidor. En un paciente con inhibidor de AR y reacciones anafilácticas, se realizó IT, registrándose síndrome nefrótico alrededor de los 7 meses, debiéndose interrumpir la misma. En 5 pacientes con estudio genético realizado, las mutaciones fueron: 2 grandes deleciones, 2 sin sentido y 1 del sitio de empalme.</p> <p>Conclusiones: La incidencia del inhibidor en nuestra población es de 10,5 % en pacientes con hemofilia B severa (7,5% en la población general con He B). Las reacciones de alergia/anafilaxia deben ser consideradas como una expresión altamente relacionada al desarrollo de inhibidores. Los inhibidores también pueden aparecer en pacientes con más de 50 DE.</p>	CO3
--	------------

<p>NEOPLASIAS MIELOPROLIFERATIVAS PHI NEGATIVAS: INFLUENCIA DEL TRATAMIENTO EN EL TAMAÑO PLAQUETARIO Y SU POSIBLE RELACIÓN CON INCIDENCIA DE TROMBOSIS. Cellucci AS¹, Marin Oyarzún CP¹, Glembofsky AC², Goette NP¹, Lev PR², Grodzkiński M², Baroni Pietto MC², Heller PG², Marta RP² ¹Universidad de Buenos Aires, Instituto de Investigaciones Médicas A Lanari, Departamento de Hematología Investigación, Buenos Aires, Argentina. ²Universidad de Buenos Aires, Instituto de Investigaciones Médicas (IDIM), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Departamento de Hematología Investigación, Buenos Aires, Argentina.</p> <p>Las neoplasias mieloproliferativas (NMP) Phi negativas clásicas que comprenden la trombocitemia esencial (TE), policitemia vera (PV) y mielofibrosis primaria (MF) están asociadas con frecuencia a trombosis. Los tratamientos disponibles incluyen hidroxiurea (HU), Interferón α (IFNα), anagrelide (ANA), y el inhibidor de JAK, ruxolitinib (RUXO) en MF. Considerando que las plaquetas grandes son más reactivas y se asocian a eventos trombóticos, en este estudio se evaluó el tamaño plaquetario en 76 pacientes con NMP agrupados de acuerdo al diagnóstico, tratamiento y estado mutacional (JAK2, CaR y Mpl). Ya que los contadores hematológicos tienen limitaciones en la detección de plaquetas grandes, se evaluó el diámetro plaquetario máximo (DPM) por microscopía en frotis teñidos con May-Grumwald Giemsa y medición con software de análisis celular, en al menos 100 plaquetas/preparado. Los pacientes con NMP tuvieron aumento del DPM (test T, $p < 0.05$). El DPM fue mayor en MF, mientras que no hubo diferencias por tipo de mutación. El DPM estuvo aumentado en pacientes tratados con IFNα, 3,06 μm (2,69-3,28), n=8, (mediana y rango), ANA, 2,99 μm (2,32-3,35), n=10 y RUXO, 3,14 μm (2,77-3,52), n=9, respecto al grupo control 2,56 μm (2,24-2,98) n= 27 y a pacientes con HU, 2,45 μm (2,19-2,83), n=23 (ANOVA seguido de test de Tukey, $p < 0.0001$). Además, el DPM de pacientes sin tratamiento, 2,70 μm (2,19-3,44), n=26, también fue mayor que el de controles. Para estudiar las causas de estas diferencias, se evaluó la estructura microtubular plaquetaria (marcación con anti-tubulina-FITC y análisis microscópico). Se observó una correlación directa entre el porcentaje de plaquetas con estructura microtubular alterada y el DPM (Pearson, $r = 0.7080$; $p < 0.01$, n=13) Para evaluar si la alteración de la estructura microtubular se origina durante la formación de las proplaquetas, se cultivaron progenitores hematopoyéticos CD34+ de sangre de cordón umbilical en presencia de tromboxetina para estimular la megacario/poyesis. En pocillos independientes se adicionaron las siguientes drogas: 5-15 μM HU (día 5 de cultivo) y 2,6-5,2 μM IFNα y 50-100 nM ANA (día 12 de cultivo). Resultados de dos experimentos preliminares evaluados por inmunofluorescencia con anti-tubulina-FITC el día 15, muestran aumento del tamaño de los extremos proplaquetarios en presencia de ANA e IFNα respecto a HU y controles. Nuestro resultados sugieren que el tipo de tratamiento podría influenciar el tamaño plaquetario, presumiblemente por alteración de la estructura microtubular durante la formación de las plaquetas. La disminución del DPM observada en pacientes en tratamiento con HU podría contribuir al efecto beneficioso de esta droga en la prevención de la trombosis.</p>	CO4
---	------------