



Eritrocitosis Patológica de Altura



© Samu

Unidad de Biología Celular
Facultad de Medicina, UMSA
2da Edición, 2021

Ricardo Amaru



Ricardo Amaru M.D.
Oncohematólogo / Biólogo Molecular
Profesor, Facultad de Medicina, UMSA, Bolivia
Académico, Academia Nacional de Ciencias de Bolivia
Académico, Academia Boliviana de Medicina

Febrero 2021
La Paz, Bolivia

Depósito legal:
4-1-1160-2020
ISBN:
978-9917-0-0784-5

Portada:
Ciudad del Cielo (La Paz-Bolivia), fotografía de Samuel Fredy Huanca Ali
Contraportada:
Solo un toque de poesía diáfana (La Paz-Bolivia), fotografía de Karen Puente Aldana

ISBN: 978-9917-0-0784-5



A la Academia Nacional de Ciencias de Bolivia y a la Academia Boliviana de Medicina por impulsar la investigación, aun en un contexto difícil y complicado para contribuir con la salud de la población boliviana. Asimismo, en memoria de los académicos que hicieron y aquellos que continúan realizando esfuerzos para producir conocimiento en favor de la sociedad.



AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a los siguientes profesores por todo el asesoramiento brindado, además, de su constante y desinteresada cooperación.

	Prof. Josef T. Prchal Universidad de Utah, EE. UU.
	Prof. Tiziano Barbui Universidad de Milano, Italia.
	Prof. Alessandro Rambaldi Universidad de Milano, Italia.
	Prof. Max Gassmann Universidad Zürich, Suiza.
	Prof. Victor Gordeuk Universidad de Illinois, EE.UU.
	Dra. Jihyun Song Universidad de Utah, EE.UU.

UNIDAD DE BIOLOGÍA CELULAR
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS FUNCIONALES
FACULTAD DE MEDICINA, UMSA



Prof. Ricardo Amaru Lucana
JEFE UNIDAD DE BIOLOGÍA CELULAR



Dr. Teddy Quispe Soto. MSc.
RESPONSABLE LABORATORIO DE TERAPIA CELULAR



Dra. Maria Julieta del Rosario Luna Leyza. MSc.
RESPONSABLE LABORATORIO DE CITOMETRÍA DE FLUJO



Dra. Silvia Eugenia Mancilla Rivera. MSc.
RESPONSABLE LABORATORIO DE BIOLOGÍA MOLECULAR



Dra. Hortencia Miguez Vargas
RESPONSABLE LABORATORIO DE CULTIVO CELULAR



Dr. Juan Carlos Valencia Tola. MSc.
INVESTIGADOR ASISTENTE



Tec. Luis Felipe Mamani Jallasi
INVESTIGADOR ASISTENTE



Dr. Ariel Amaru Calzada. MD. PhD.
INVESTIGADOR ASISTENTE



Lic. Daniela Paton Mamani
RESPONSABLE DE CORRECCIÓN Y ESTILO



Lic. Jhonny A. Ticona Limachi
RESPONSABLE DE DISEÑO Y DIAGRAMACIÓN

PRESENTACIÓN

El Dr. Ricardo Amaru me honra con la presentación de su libro «Eritrocitosis Patológica de Altura», cumplo entonces con esa grata tarea. Presentar al autor no cabe, pues él es ampliamente conocido en el ambiente académico nacional e internacional y así lo atestiguan sus trabajos. Intentaré más bien, una aproximación personal y humana, junto a un breve comentario del libro.

Habiendo sido un brillante estudiante, el Dr. Amaru hizo su práctica médica en el Hospital Juan XXIII, etapa e instancias concurrentes que fueron las llaves para que continuara sus estudios de especialización en Italia. A su retorno, tras orientar otros proyectos en salud, se incorporó a la Facultad de Medicina de la UMSA, donde puso en marcha un pequeño laboratorio de investigación en el noveno piso. Allí conocí al Dr. Amaru, cuando accedí a la Jefatura del Departamento de Ciencias Funcionales. Intuitivamente, advertí grandes perspectivas de ese laboratorio y instauré condiciones para su desarrollo. Fue así que, dispuse el traslado del laboratorio a un espacio más amplio y adecuado en el séptimo piso, sugerí bautizarlo como «Unidad de Biología Celular». Posteriormente, cuando retomé la jefatura, realicé gestiones para convertir a la «Unidad» en el «Instituto de Biología Celular», hoy una palpitante realidad. De ese ámbito han surgido muchos trabajos de investigación, entre ellos, la presente obra que hoy sale a la luz.

El estudio de la patología de la altura tuvo grandes exponentes, primero peruanos, con estudios en Morococha realizados por Monje, Alzamora Castro, Marticorena, Tulio Velázquez y Dante Peñaloza, quienes incorporaron el término “Soroche” (del vocablo quechua «Sorojchi»). En Bolivia, ese ámbito fue impulsado por el recordado profesor Jorge Ergueta Collao. Ahora bien, en los tiempos pre hispánicos, los incas ya habían detectado el «mal de altura». Si este imperio hubiera desarrollado su escritura, la información adquirida sería valiosísima; sin embargo, quedan vestigios arqueológicos y el genoma andino –una escritura encriptada en el código genético del núcleo y las mitocondrias–, allí penetró Amaru como quien ingresa al laberinto de Dédalo para derrotar al Minotauro.

La eritrocitosis patológica en la altura tiene una etiopatogenia que se remonta a un origen lejano, cerca de 14.000 años de presencia humana en las cumbres andinas. Curiosamente, esta patología es inexistente en el Tibet, al norte de los Himalayas. Tales observaciones indujeron a Amaru a columbrar estudios en Los Andes donde se instalaron pueblos milenarios. Amaru y sus colaboradores nos ilustran que la verdadera adaptación es genética y, en consecuencia, gestada en un larguísimo plazo, hace 44.000 años en el Tibet y 14.000 años en Los Andes. He ahí la clave de la Eritrocitosis Patológica de Altura (EPA).

Tan apasionante es el relato en el cual Dr. Amaru nos sumerge que, escudriñando el árbol genealógico de nuestra especie nos permite comprender a la EPA con eritropoyetina normal, pero con sensibilidad incrementada a su acción y hemoglobina desbocada. Ese es el tributo a pagar a nuestra condición de inmigrantes «recientes» en este macizo andino, formidable altiplano tachonado de lagos garzos con reminiscencias de enigmáticas culturas. Sería equívoco concebir al macizo boliviano como insalubre u obstáculo para el desarrollo humano, pues cual imán gigantesco aglutinó a todo un país de pintorescos valles, planicies amazónicas y llanuras platenses. Fue también en ese maravilloso escenario geográfico donde surgió el liberador pensamiento universitario de Charcas, precedido por movimientos autóctonos como el de Túpac Amaru, emblemático apellido de nuestro autor.

Esa fascinante travesía adaptativa a la altura, apreciados lectores, me complace en presentar.



Prof. Jorge Fernández Dorado

Departamento de Ciencias Funcionales
Facultad de Medicina, UMSA, Bolivia

La Paz, noviembre de 2020

FOREWORD



Division of Hematology and Hematologic
Malignancies
2000 Circle of Hope, Room 4126
Salt Lake City, UT 84112
801.555.3229

November 19, 2020

I am honored to write this introduction for a book written by one of the most accomplished physician-scientist I know; Professor Ricardo Amaru the hematologist at La Paz Bolivia. Dr. Amaru is the Academician at the National Academy of Sciences and the Director of Cell Biology Unit at the Medical School of San Andres University in La Paz. He is an internationally recognized clinician and researcher known for his experience connecting clinical excellence with high-caliber research.

High-altitude dwellers have developed evolutionary-selected genetic armamentarium permitting them to strive at the extreme life-long hypoxia associated with living for many generations at their extreme environment. Yet, while the modern humans living at different part of the world at the comparable high-altitude, they have not developed the same unique genetic characteristics for permitting them to exist and prosper at this extreme ambient hypoxia. This is exemplified by genetic studies of Tibetans in Himalayas, Andean dwellers Aymaras and Quechuas, and the Ethiopians living for generations at the high mountains; these three populations have evolved unique genomic signatures; however, some haplotypes may be shared among them; yet in different frequencies. Being a native Aymara, it would be hard to find anybody who qualifies better for these ongoing investigations of Andean adaptation than Dr. Amaru. One would expect that these genetic traits would be identical or very similar in the populations living for many generations at the same geographic locale. Yet, while Andean Aymaras and Quechuas share some genetic similarities they are not identical. This emerging new knowledge to which professor Amaru has been the major contributor is only now being deciphered. As he eloquently describes in his book this knowledge is not only of scientific and evolutionary interest but it has also obvious practical importance for the whole mankind. There are many disorders seen in the entire world regardless of the residence altitude which are also associated with hypoxia; such as lung diseases, anemias, thromboembolic and cardiovascular disorders, and cancer. The ongoing advances in the detailed molecular knowledge of hypoxic responses and their molecular correlates defined by genetic polymorphism will be of obvious practical importance. The better understanding of these differential responses then could be translated to targeted therapies of these common human maladies.

On the personal note, we started to collaborate in 2013 and I benefited more than professor Amaru from this collaboration. His experience connecting clinical excellence with high-caliber research is unsurpassed. Frankly, at our initial contact at 2012 Dr. Ricardo Amaru contacted me about his original observation of intrinsically hyperproliferative erythroid progenitors in those Aymaras with high hemoglobin without lung disease and I was skeptical. I was then humbled by confirming in blind samples his original unique phenotype. At my multiple followup visits to Bolivia I learned to deeply appreciate professor Amaru's keen intellect and scientific integrity. His original description of Aymara erythrocytosis, that is distinct from polycythemia vera, Ricardo Amaru describes in detail in this exceptional book.

Sincerely,

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'J. Prchal'.

Josef T. Prchal, M.D.

The Charles A. Nugent, M.D., and Margaret Nugent Professor
Professor of Medicine, Pathology, and Genetics
Division of Hematology & Hematologic Malignancies

PRÓLOGO

Es un honor para mí introducir este libro escrito por uno de los médicos y científicos más destacados que conozco, profesor Ricardo Amaru, hematólogo de La Paz-Bolivia. El Dr. Amaru es Académico de la Academia Nacional de Ciencias, Director de la Unidad de Biología Celular en la Facultad de Medicina de la Universidad Mayor de San Andrés y un médico e investigador reconocido internacionalmente por su experiencia en combinar la excelencia clínica con la investigación de alto nivel.

Los habitantes en la altura han desarrollado un arsenal genético seleccionado por evolución que les permite vivir en este entorno por generaciones y hacerle frente a la hipoxia crónica. Pese a ello, las poblaciones modernas que viven a alturas similares en diferentes partes del mundo no tienen las mismas características genéticas únicas para habitar y prosperar en tal ambiente de hipoxia extrema. Así lo reflejan estudios genéticos en los tibetanos del Himalaya, los andinos aymaras y quechuas, y los etíopes, residentes de altura durante generaciones; estas tres poblaciones han desarrollado características genómicas únicas, pero algunos haplotipos pueden ser comunes entre ellos, aunque en diferentes frecuencias. Por lo que, al ser de origen aymara, sería difícil encontrar a alguien más calificado que el Dr. Amaru para estas continuas investigaciones sobre la adaptación andina.

Sería lógico considerar que estos rasgos genéticos sean idénticos o muy parecidos entre poblaciones que han habitado el mismo lugar geográfico por generaciones; sin embargo, aunque los aymaras y los quechuas andinos tienen algunas similitudes genéticas en común, éstas no son iguales. Este nuevo conocimiento emergente en el cual el profesor Amaru ha sido el principal contribuyente recién ahora comienza a ser descifrado. Como describe elocuentemente en su libro, este conocimiento no solo es de interés científico y evolutivo, sino que también tiene una importancia práctica obvia para la toda la humanidad. Hay muchas enfermedades en el mundo, independientemente de la altura de residencia, que están relacionadas con la hipoxia, como las enfermedades pulmonares, anemias, eventos tromboembólicos, alteraciones cardiovasculares y cáncer. Los continuos avances en el conocimiento molecular pormenorizado sobre las respuestas a la hipoxia y sus correlaciones moleculares definidas por polimorfismos genéticos serán de obvia importancia práctica. Una mejor comprensión de todas estas distintas respuestas podría plasmarse entonces en terapias dirigidas a estas enfermedades humanas comunes.

En un sentido más personal, nuestra colaboración inició en 2013 y yo fui el más beneficiado. La experiencia del profesor Amaru en conectar la excelencia clínica con la investigación de alto nivel es insuperable. Francamente, en nuestro contacto inicial en 2012, el Dr. Ricardo Amaru me comentó sobre su observación inédita acerca de progenitores eritroides intrínsecamente hiperproliferativos en aquellos aymaras con hemoglobina elevada y sin enfermedad pulmonar, al cual me mostré escéptico. Posteriormente, me quedé admirado al confirmar en muestras ciegas ese fenotipo único y original. En mis múltiples y continuas visitas a Bolivia, aprendí a apreciar profundamente el apasionado intelecto y la integridad científica del profesor Amaru, su descripción original de la eritrocitosis aymara (Eritrocitosis Patológica de Altura), distinta de la policitemia vera, la expone con detalle en este libro excepcional.

19 de noviembre, 2020



A handwritten signature in dark ink, appearing to read 'J. Prchal'.

Josef T. Prchal M.D.

Titular de la Cátedra Charles A. Nugent M.D. y Margaret Nugent
Profesor de Medicina, Patología y Genética
División de Hematología y Neoplasias Hematológicas

CONTENIDO

Introducción.....	17
I. Caracterización de la Eritrocitosis Patológica de Altura (EPA)	
1. Eritrocitosis patológicas en habitantes residentes a grandes alturas	19
2. Caracterización biológica de la Eritrocitosis Patológica de Altura.....	27
3. Caracterización clínica de la Eritrocitosis Patológica de Altura.....	37
4. Complicaciones en la Eritrocitosis Patológica de Altura.....	43
5. Hipertensión Arterial Pulmonar en pacientes con eritrocitosis patológicas.....	47
6. Eritrocitosis Microcítica Post Flebotomía: una nueva entidad clínica.....	55
II. Diagnóstico y tratamiento de las eritrocitosis patológicas en la altura	
7. Tratamiento <i>in vitro</i> de las eritrocitosis patológicas en la altura.....	63
8. Tratamiento de la Eritrocitosis Patológica de Altura (EPA)	71
9. Tratamiento de la Eritrocitosis Secundaria (ES) en la Altura	77
10. Hidroxiurea en el tratamiento de la Eritrocitosis Secundaria (ES) en adultos mayores contraindicados para flebotomía	85
11. Tratamiento de la Policitemia Vera (PV) con atorvastatina, aspirina y dosis bajas de hidroxiurea.....	93
12. Líneas guía para el diagnóstico y tratamiento de las eritrocitosis patológicas en la altura	101
III. Acción farmacológica y mecanismos moleculares	
13. Estatinas en el tratamiento de las eritrocitosis patológicas	111
14. Ácido acetilsalicílico en el tratamiento de las eritrocitosis patológicas	127
15. Ascorbato en el tratamiento de las eritrocitosis patológicas	133
16. Hidroxiurea en el tratamiento de las eritrocitosis patológicas	139
IV. Valores de hemoglobina en la altura	
17. Valores hematológicos de mujeres gestantes en la altura (3650 msnm).....	143
18. Valores hematológicos de neonatos en la altura (3650 msnm).....	149
19. Valores de hemoglobina en la población de Chorolque a 5000 msnm	153
V. Adaptación del hombre andino a la altura	
20. Adaptación hematológica del habitante andino a la altura	159
21. Metabolismo del hierro en la altura	175

INTRODUCCIÓN

La presente edición ha sido organizada conforme a las investigaciones realizadas en nuestra unidad durante los últimos 20 años. Se ha procurado estructurar una secuencia lógica y coherente con todo el contenido; por lo que, esta segunda edición brinda información actualizada y reestructurada.

El primer apartado se centra en establecer las características de la Eritrocitosis Patológica de Altura (EPA), una patología propia de los habitantes andinos residentes en la altura de Bolivia, de características biológicas y clínicas únicas que la distinguen de los otros tipos de eritrocitosis existentes. A su vez, también muestra los otros tipos de eritrocitosis más frecuentes en la altura y las complicaciones que conllevan.

El segundo apartado aborda el diagnóstico clínico-laboratorial y diagnóstico diferencial entre las eritrocitosis de relevancia clínica, propone también sus respectivos tratamientos farmacológicos para cada una de ellas, fundamentados a partir de ensayos in vitro y evidencias moleculares. Conjuntamente, considerando la estructura sanitaria vigente, se establece líneas guía actualizadas para una mejor gestión y manejo de las eritrocitosis, además de propuestas de tratamiento de la hipertensión arterial pulmonar asociado a eritrocitosis y de eritrocitosis microcítica post-flebotomía.

El tercer apartado refiere a la acción farmacológica de los medicamentos empleados en el tratamiento de las distintas eritrocitosis, enfatizando en la acción de éstos sobre la disminución de la hemoglobina; además, se detalla la acción molecular de los fármacos sobre las vías metabólicas comprometidas en la eritropoyesis y el metabolismo del hierro.

El cuarto apartado centra interés en los valores normales de hemoglobina y hematocrito de diferentes poblaciones y grupos etarios habitantes en grandes alturas, en un apartado especial se detalla los valores de hemoglobina y hematocrito de habitantes a 5.000 msnm. Estos datos permiten orientar conductas de utilidad clínica frente a pacientes con eritrocitosis.

Finalmente, el quinto apartado está dedicado al mecanismo genético de adaptación a la altura del hombre andino. Se describe mutaciones de genes comprometidos en la adaptación hematológica a la altura, enriquecidos en tibetanos y aymaras. Incluye adicionalmente capítulos de interés para futuros estudios que involucren el metabolismo del hierro.

De esta manera, el presente documento propone la caracterización de la Eritrocitosis Patológica de Altura, fundamentos para el diagnóstico diferencial y protocolos de tratamiento orientados a mejorar la salud y la calidad de vida de los habitantes en la altura. También pretende servir de base para que las futuras generaciones puedan encontrar en la patología de la altura una línea de investigación competitiva y de nivel internacional.

ERITROCITOSIS PATOLÓGICAS EN HABITANTES RESIDENTES A GRANDES ALTURAS

Amaru Ricardo, Patón Daniela, Miguez Hortencia, Luna Julieta, Mancilla Silvia, Quispe Teddy.

Unidad de Biología Celular, Facultad de Medicina, UMSA, La Paz, Bolivia.

ANTECEDENTES

La tierra, desde su formación, ha estado marcada por acontecimientos importantes tales como la formación de las montañas del Himalaya (Tíbet) entre 245 a 65 millones de años y la formación de la Cordillera de Los Andes entre 138 a 65 millones de años⁽¹⁻⁴⁾. Poblaciones nativas del Tíbet y Los

Andes colonizaron dichas formaciones desde hace 44 000 y 14 000 años, respectivamente⁽⁵⁻⁷⁾. En la actualidad, se estima que en el mundo alrededor de unos 140 millones de personas viven en regiones superiores a 2500 m s. n. m. de los cuales 35 millones radican en Los Andes y 80 millones en Asia, incluyendo China y Asia Central^(5, 7-11).

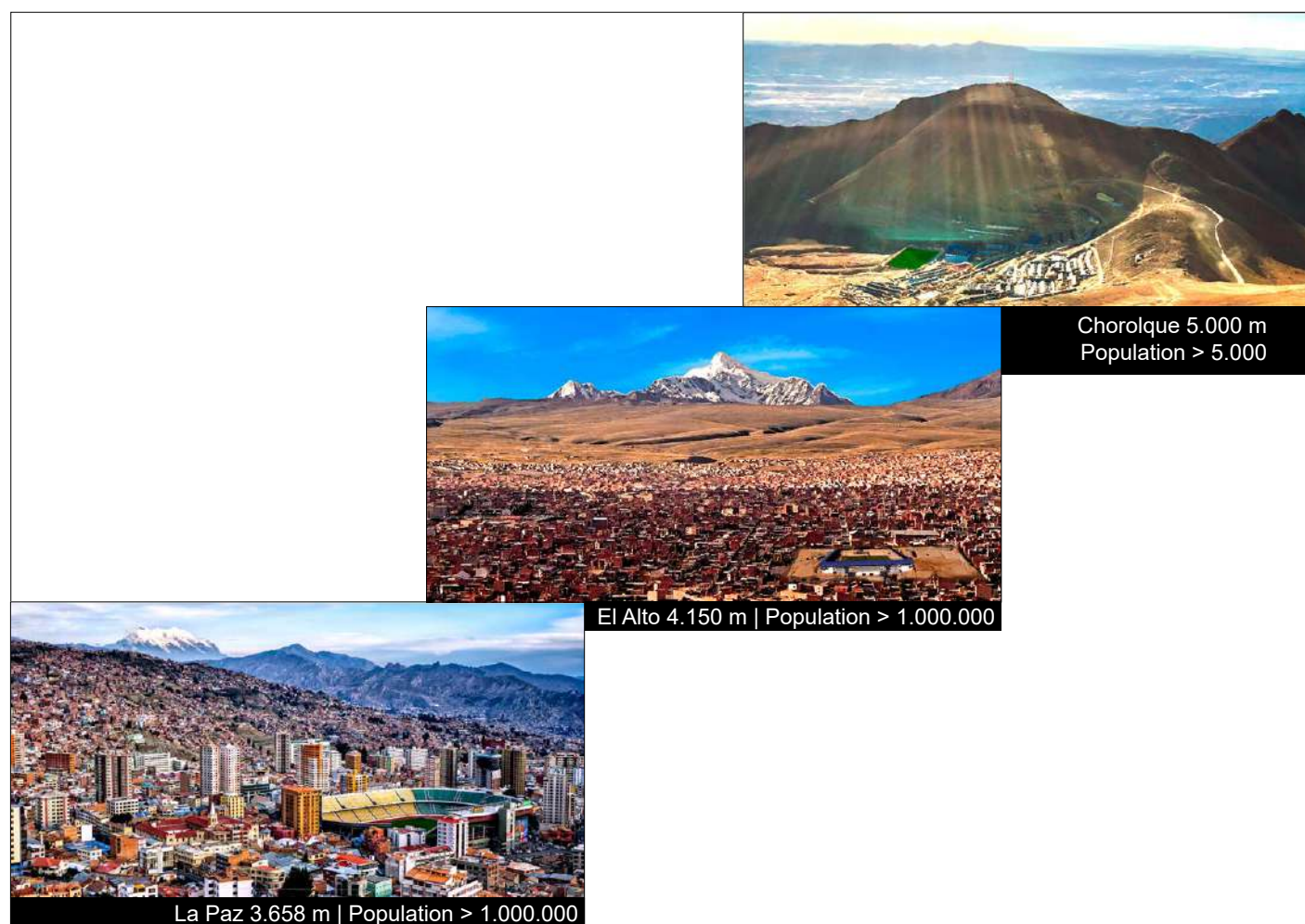


Figura 1. Poblaciones residentes a grandes alturas en Bolivia. Ciudades de La Paz y El Alto pertenecientes al departamento de La Paz. Población minera de Chorolque perteneciente al departamento de Potosí.

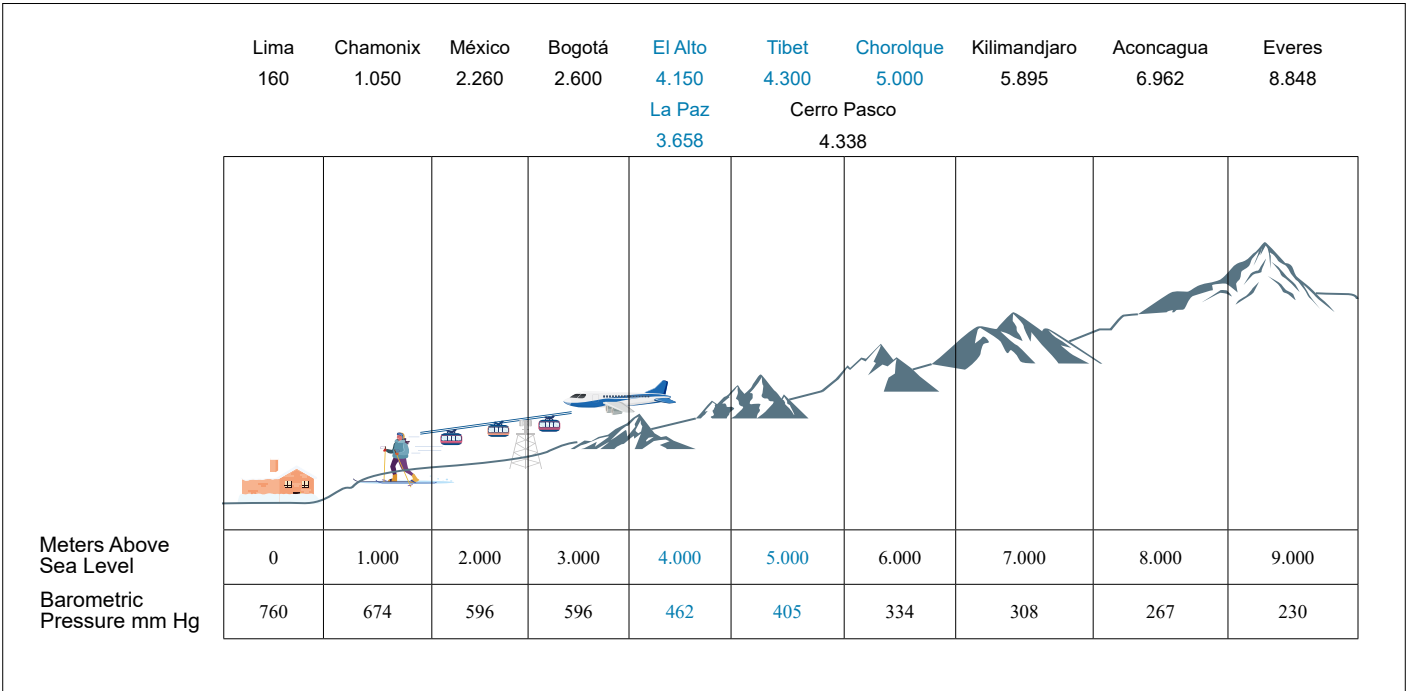


Figura 2. Altura y presión barométrica de las principales ciudades a grandes alturas. *Figura estructurada con base en Hu H., Evolutionary history of Tibetans inferred from whole-genome sequencing. PLoS Genet. 2017;13.*

America del Sur alberga poblaciones grandes que se han asentado a altitudes impresionantes. En Bolivia, se sitúan ciudades como La Paz a 3658 m s. n. m. con una población mayor a un millón⁽¹²⁾, El Alto a una altura de 4150 m s. n. m. también con una población mayor a un millón de habitantes⁽¹³⁾ y Chorolque, una población minera, a 5000 m s. n. m. con una población aproximada de 5000 habitantes^(14, 15) (Figura 1); conjuntamente, están expuestas a presiones barométricas bajas, La Paz a 495 mmHg⁽¹⁶⁾, El Alto a 453 mmHg y Chorolque a 405 mmHg⁽¹⁷⁾ (Figura 2). Estas poblaciones son únicas por sus características y constituyen lugares propicios para el estudio de la eritrocitosis en la altura.

La baja presión de oxígeno en grandes alturas, los procesos evolutivos y los tiempos de exposición distintos en los que vivieron poblaciones tibetanas y andinas dieron lugar a una selección natural y adaptación genética de modos diferentes⁽¹⁸⁻²⁰⁾. Los tibetanos montañoses, gracias a la selección positiva de genes involucrados en el control de la eritropoyesis, evolucionaron hacia una concentración de hemoglobina

similar a la de los habitantes del nivel del mar; mientras que, los andinos evolucionaron a una concentración de hemoglobina elevada en relación a los habitantes del nivel del mar, esto probablemente por mecanismos de selección genética distintos o por un periodo insuficiente de exposición a grandes alturas^(18, 21-23) (Figura 3). Esto puede hacerse evidenciable cuando los nativos montañoses tibetanos y andinos presentan una baja concentración de hemoglobina en relación a los nativos de tierras bajas que migraron recientemente a grandes alturas⁽²³⁾.

La exposición a baja presión barométrica de los habitantes residentes de grandes alturas contribuye a la presentación de patologías agudas y crónicas. Entre las patologías agudas se encuentran la Enfermedad Aguda de Montaña, el edema cerebral y el edema pulmonar⁽²⁴⁻²⁶⁾; mientras tanto, las patologías crónicas están representadas por la Enfermedad Crónica de Montaña cuya repercusión es de carácter sistémica y donde la eritrocitosis se constituye como uno de los principales trastornos hematológicos de relevancia clínica y social⁽²⁷⁻²⁹⁾. La prevalencia de la eritrocitosis difiere de acuerdo

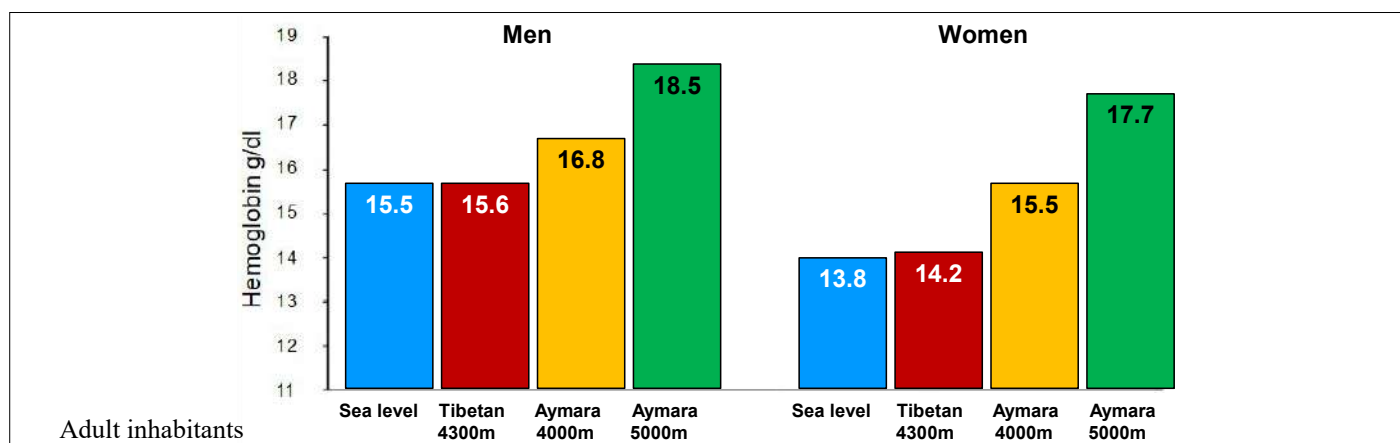


Figura 3. Valores de hemoglobina en poblaciones de grandes alturas en relación con poblaciones a nivel del mar.

Figura estructurada con base en Beall, C et al. PNAS 2007; Groves et al. Journal of Applied Physiology 1993; and Amaru, R et al. Rev Hematol Mex 2016. Aymara 4000m: corresponde a habitantes residentes en las ciudades de La Paz y El Alto. Aymara 5000m: corresponde a habitantes residentes en Chorolque.

a la región, el tiempo de residencia y la altura de radicación. De este modo, la prevalencia es de 1.2 % en Tibetanos Nativos, 5.6 % en los Chinos Han, 15.6 % en los habitantes de la cordillera de Los Andes^(10, 27).

En la ciudades de La Paz y El Alto en Bolivia, entre 3600 y 4000 m s. n. m., la prevalencia de la eritrocitosis es del 7 % considerando que los niveles normales de hemoglobina (Hb) oscilan entre 14 a 17 g/dl en mujeres y 15 a 18 g/dl en varones; mientras tanto, Chorolque a 5000 m s. n. m. tiene una prevalencia mayor a 50 % considerando niveles de Hb normales entre 15 a 18 g/dl en mujeres y de 16 a 19 g/dl en varones⁽⁴⁸⁾ como se observa en la Figura 3.

CLASIFICACIÓN DE LA ERITROCITOSIS

La eritrocitosis se caracteriza por el aumento de la masa eritrocitaria por encima de los parámetros normales y se clasifica (Cuadro 1) de la siguiente manera:

Eritrocitosis Primaria, caracterizada por presentar una eritropoyetina sérica disminuida o normal. Esta eritrocitosis a su vez se subclasifica en adquiridas o congénitas; la eritrocitosis primaria adquirida se debe a mutaciones somáticas como la mutación del gen JAK2 en la Policitemia Vera (PV), y la eritrocitosis primaria congénita está relacionada con mutaciones en el gen Receptor de la Eritropoyetina (EpoR)⁽³⁰⁻³⁴⁾.

Eritrocitosis Secundaria, caracterizada por el aumento de la eritropoyetina sérica. Está eritrocitosis se desarrolla como consecuencia de patologías asociadas; también se subclasifica en adquiridas, tal el caso de las patologías cardiopulmonares, y congénitas, en correspondencia a las cardiopatías congénitas^(28, 34-38).

Eritrocitosis Mixta, son aquellas que presentan concentraciones normales o elevadas de Eritropoyetina sérica (Epo) y Colonias Eritroides Endógenas (CEE) o Progenitores Eritroides (PE) hipersensibles a eritropoyetina. También están subclasificadas en adquiridas y congénitas.

La eritrocitosis mixta adquirida está representada por la Eritrocitosis Patológica de Altura (EPA), caracterizada por niveles normales de Epo sérica y por la presencia de CEE. Este tipo de eritrocitosis es propia de los habitantes andinos^(34, 39-42).

La eritrocitosis mixta congénita se debe a cambios en la línea germinal del DNA como las mutaciones hereditarias recesivas del gen Von Hippel Lindau (VHL) en la policitemia de Chuvash, se caracteriza por niveles elevados de Epo sérica y PE hipersensibles a la Epo. Este tipo de eritrocitosis es endémica de la población de Chuvash en Rusia⁽⁴³⁻⁴⁷⁾.

Cuadro 1. Clasificación de las eritrocitosis patológicas

1. Eritrocitosis Primaria (Epo sérica disminuida) a. Adquiridas (Presencia de CEE) • Policitemia Vera b. Congénitas (PE hipersensibles a Epo) • Eritrocitosis por mutaciones del Epo-R • Hemoglobinopatía de alta afinidad con oxígeno • Deficiencia de 2,3 DPG mutasa 2. Eritrocitosis Secundaria (Epo sérica elevada) a. Adquiridas • Secundaria a EPOC • Secundaria a Obesidad / Síndrome metabólico • Síndrome de apnea del sueño • Eritrocitosis por cardiopatía adquirida • Tabaquismo • Neoplasias b. Congénitas • Cardiopatías congénitas • Estenosis de arteria renal 3. Eritrocitosis Mixta a. Adquiridas (Epo sérica normal, presencia de CEE) • Eritrocitosis Patológica de Altura (aymaras) b. Congénitas (Epo sérica elevada, PE hipersensible a Epo) • Eritrocitosis de Chuvash
--

*Esta clasificación se argumenta con base en los trabajos de Tiziano Barbui, Josef Prchal, Xylina Gregg y Ricardo Amaru. **Epo:** Eritropoyetina, **CEE:** colonias Eritroides Endógenas, **Epo-R:** Receptor de la Eritropoyetina, **EPOC:** Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica, **PE:** Progenitores Eritroides.*

Con todo lo descrito anteriormente, las eritrocitosis de importancia clínica presentes en habitantes de grandes alturas son la Eritrocitosis Patológica de Altura (EPA), la Eritrocitosis secundaria (ES) y la Policitemia Vera (PV).

Eritrocitosis secundaria (ES)

Constituye el 90 % de todas las eritrocitosis en consulta médica, representa la consecuencia de patologías asociadas al aumento de la eritropoyetina sérica como las patologías cardiopulmonares, Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC), obesidad, síndrome metabólico, síndrome de apnea del sueño, cardiopatías entre otras.

Eritrocitosis Patológica de Altura (EPA)

Constituye el 8 % de las eritrocitosis en la consulta médica. La Eritrocitosis Patológica de Altura (EPA) es la manifestación hematológica de mal crónico de montaña (Chronic Mountain Sickness, CMS) presente en sujetos que viven en alturas superiores a 2.500 msnm.

Policitemia Vera (PV)

Constituye el 1 % de las eritrocitosis en consulta médica, es una enfermedad oncohematológica clonal asociada a leucocitosis, trombocitosis, crecimiento autónomo de colonias eritroides endógenas (CEE), eritropoyetina sérica baja y mutación somática del gen JAK2 V617F.

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

En la práctica clínica se debe considerar eritrocitosis cuando los niveles de hemoglobina se encuentran por encima de 18 g/dl en mujeres y mayor a 19 g/dl en varones; asimismo, es

necesario realizar un diagnóstico diferencial entre las 3 principales eritrocitosis patológicas: ES, EPA y PV. Eventualmente, en estas 3 eritrocitosis se encuentra el 99 % de todas las eritrocitosis patológicas propias de los habitantes de grandes alturas (Cuadro 2).

Cuadro 2. Diagnóstico diferencial de las eritrocitosis patológicas en habitantes de grandes alturas

	CN	EPA	ES	PV
EPOC, Obesidad, tabaquismo	No	No	Si	No
Esplenomegalia	No	No	No	Si
Leucocitosis	No	No	No	Si
Eritropoyetina sérica	Normal	Normal	Elevada	Baja
Mutación JAK2	No	No	No	Si

CN: Controles Normales. **EPA:** Eritrocitosis Patológica de Altura. **ES:** Eritrocitosis Secundaria. **PV:** Policitemia Vera.

Referencias

- Cracraft J. The scientific response to creationism. *Science, Technology, & Human Values*. 1982;7(3):79-85.
- Futuyma DJ, Moreno G. The evolution of ecological specialization. *Annual review of Ecology and Systematics*. 1988;19(1):207-33.
- Storz JF. Genes for high altitudes. *Science*. 2010;329(5987):40-1.
- Li P, Huang J, Tian H-j, Huang Q-y, Jiang C-h, Gao Y-q. Regulation of bone marrow hematopoietic stem cell is involved in high-altitude erythrocytosis. *Experimental hematology*. 2011;39(1):37-46.
- Julian CG, Moore LG. Human Genetic Adaptation to High Altitude: Evidence from the Andes. *Genes*. 2019;10(2):150.
- Hu H, Petousi N, Glusman G, Yu Y, Bohlender R, Tashi T, et al. Evolutionary history of Tibetans inferred from whole-genome sequencing. *PLoS genetics*. 2017;13(4).
- Rademaker K, Hodgins G, Moore K, Zarrillo S, Miller C, Bromley GR, et al. Paleoindian settlement of the high-altitude Peruvian Andes. *Science*. 2014;346(6208):466-9.
- Moore LG. Human genetic adaptation to high altitude. *High altitude medicine & biology*. 2001;2(2):257-79.
- Scheinfeldt LB, Soi S, Thompson S, Ranciaro A, Woldemeskel D, Beggs W, et al. Genetic adaptation to high altitude in the Ethiopian highlands. *Genome biology*. 2012;13(1):R1.
- Pasha MQ, Newman JH. High-altitude disorders: pulmonary hypertension: pulmonary vascular disease: the global perspective. *Chest*. 2010;137(6):13S-9S.
- Lorenzo FR, Huff C, Myllymäki M, Olenchock B, Swierczek S, Tashi T, et al. A genetic mechanism for Tibetan high-altitude adaptation. *Nature genetics*. 2014;46(9):951.
- Aldunate P, Paz O, Halvorsen K. Los efectos de la contaminación atmosférica por PM10 sobre la salud ciudad de La Paz-Bolivia (3650 msnm). *Acta Nova*. 2006;3(2):422-42.
- Albó X. El Alto, la vorágine de una ciudad única. *Journal of Latin American Anthropology*. 2006;11(2):329-50.
- Mamani BC. "La palabra era ley del varón": desigualdad económica y exclusión social en la cooperativa minera Chorolque (Potosí-Bolivia). *Nuevas problemáticas de género y desigualdad en América Latina y el Caribe*. 15.
- Zubieta-Castillo G, Zubieta-Calleja G, Zubieta-Calleja L. Chronic mountain sickness: the reaction of physical disorders to chronic hypoxia. *Journal of physiology and pharmacology*. 2006;57:431.
- Spielvogel H. Presión Arterial Pulmonar y altura. *Cuadernos Hospital de Clínicas*. 2007;52(2):86-92.
- Hinojosa-Campero WE. Gasometría arterial y adaptación en la altura. *Revista Médico-Científica "Luz y Vida"*. 2011;2(1):39-45.

18. Simonson TS, Yang Y, Huff CD, Yun H, Qin G, Witherspoon DJ, et al. Genetic evidence for high-altitude adaptation in Tibet. *Science*. 2010;329(5987):72-5.
19. Tashi T, Feng T, Koul P, Amaru R, Hussey D, Lorenzo FR, et al. High altitude genetic adaptation in Tibetans: No role of increased hemoglobin-oxygen affinity. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*. 2014;53(1-2):27-9.
20. Ge R-L, Simonson TS, Cooksey RC, Tanna U, Qin G, Huff CD, et al. Metabolic insight into mechanisms of high-altitude adaptation in Tibetans. *Molecular genetics and metabolism*. 2012;106(2):244-7.
21. Petousi N, Robbins PA. Human adaptation to the hypoxia of high altitude: the Tibetan paradigm from the pregenomic to the postgenomic era. *Journal of Applied Physiology*. 2014;116(7):875-84.
22. Beall CM. Genetic changes in Tibet. Mary Ann Liebert, Inc. 140 Huguenot Street, 3rd Floor New Rochelle, NY 10801 USA; 2011.
23. Beall CM. Two routes to functional adaptation: Tibetan and Andean high-altitude natives. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2007;104(suppl 1):8655-60.
24. Vargas M, Osorio J, Jiménez D, Moraga F, Sepúlveda M, Del Solar H, et al. Mal agudo de montaña a 3.500 y 4.250 m: Un estudio de la incidencia y severidad de la sintomatología. *Revista médica de Chile*. 2001;129(2):166-72.
25. Pesce JC. Mal agudo de montaña, edema cerebral y edema pulmonar de altura. Advertencia para trekkers y andinistas Comisión de Prensa y Difusión de la Sociedad Argentina de Medicina de Montaña sa. 2009;15.
26. Carrasco O, Gutiérrez-Dorado RE, Valdez-Aliendre JG, Torrez-Cruz KM. Edema agudo cerebral de altura. *Cuadernos Hospital de Clínicas*. 2009;54(1):42-5.
27. Ricardo A, Miguez H, Peñaloza R, Torres G, Vera O, Velarde J, et al. Eritrocitosis patológica de altura: Caracterización biológica, diagnóstico y tratamiento. *Revista Médica La Paz*. 2013;19(2):5-18.
28. Amaru R, Vera O, Loza F, Patón D, Carrasco M, Quispe T. Hipertensión Arterial Pulmonar en pacientes con eritrocitosis patológicas. *Revista Médica La Paz*. 2019;25(2):27-35.
29. Peñaloza D, Arias Stella J. Corazón y circulación pulmonar en grandes alturas: nativos normales y mal de montaña crónico. *Rev Peru Cardiol*. 2011;37(1):38-56.
30. Sokol L, Luhovy M, Guan Y, Prchal J, Semenza GL, Prchal J. Primary familial polycythemia: a frameshift mutation in the erythropoietin receptor gene and increased sensitivity of erythroid progenitors to erythropoietin. 1995.
31. Prchal JT. Polycythemia vera and other primary polycythemias. *Current opinion in hematology*. 2005;12(2):112-6.
32. Bartalucci N, Guglielmelli P, Vannucchi AM. Polycythemia vera: the current status of preclinical models and therapeutic targets. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*. 2020 (just-accepted).
33. Lupak O, Han X, Xie P, Mahmood S, Mohammed H, Donthireddy V. The role of a low erythropoietin level for the polycythemia vera diagnosis. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*. 2020;80:102355.
34. Amaru R, Quispe T, Torres G, Mamani J, Aguilar M, Miguez H, et al. Caracterización clínica de la eritrocitosis patológica de altura. *Revista de Hematología*. 2016;17(1):8-20.
35. da Costa CM, Gastaldi CJ, Berzoti-Coelho MG, Raquel T, de Souza NN, Simões B, et al. Differential cytokine network profile in polycythemia vera and secondary polycythemia. *Scientific Reports (Nature Publisher Group)*. 2020;10(1).
36. Finazzi G, Gregg XT, Barbui T, Prchal JT. Idiopathic erythrocytosis and other non-clonal polycythemias. *Best Practice & Research Clinical Haematology*. 2006;19(3):471-82.
37. Galindo JL, Granados CE, Galeano AC, Callejas AM, Sánchez VL. Eritrocitosis secundaria a hipoxemia como pronóstico en neumopatías crónicas exacerbadas/ Secondary erythrocytosis due to hypoxemia as prognosis in exacerbated chronic pulmonary diseases. *Revista de la Facultad de Medicina*. 2016;64(3):485.
38. Villanueva-Gimeno M, Vicario-Bermúdez J, Fonseca-López C, Caballero-Castro J, Zabala-López S, Sánchez-Elipe M, et al. Eritrocitosis secundaria a la producción inapropiada de eritropoyetina por un carcinoma de células renales. *SEMERGEN-Medicina de Familia*. 2013;39(5):282-4.
39. Amaru R, Amaru A, Miguez H, Gina T, Mamani J, Vera O, et al. Bolivian aymara natives with chronic mountain sickness have autonomous bfu-e growth. *Blood*. 2015;126:5206.
40. Amaru R, Villarroel M, Miguez H, Peñaloza R, Torres G, Barbui T, et al. Hematopoietic Progenitor Cells From Patients with Chronic Mountain Sickness Lack the JAK2V617F Mutation, Show Hypersensitivity to

- Erythropoietin and Are Inhibited by Statins. American Society of Hematology; 2009.
41. Stehlik J, Moore LG, Prchal JT, Nielsen R, Jacob E, Crawford, Ricardo Amaru, 2 Jihyun Song, 3 Colleen G. Julian, 4 Fernando Racimo, Jade Yu Cheng, Xiuqing Guo, 6 Jie Yao, 6 Bharath Ambale-Venkatesh, 7 Joao A. Lima, 7 Jerome I. Rotter, 6. The American Journal of Human Genetics. 2017;101:752-67.
 42. Song J, Han S, Amaru R, Quispe T, Kim D, Crawford JE, et al. Novel Form of Alternative Splicing of NFKB1. Its Role in Polycythemia and Adaptation to High Altitude in Andean Aymara. Blood. 2018;132(Supplement 1):2316-.
 43. Gordeuk VR, Sergueeva AI, Miasnikova GY, Okhotin D, Voloshin Y, Choyke PL, et al. Congenital disorder of oxygen sensing: association of the homozygous Chuvash polycythemia VHL mutation with thrombosis and vascular abnormalities but not tumors. Blood. 2004;103(10):3924-32.
 44. Ang SO, Chen H, Hirota K, Gordeuk VR, Jelinek J, Guan Y, et al. Disruption of oxygen homeostasis underlies congenital Chuvash polycythemia. Nature genetics. 2002;32(4):614-21.
 45. Tomasic NL, Piterkova L, Huff C, Bilic E, Yoon D, Miasnikova GY, et al. The phenotype of polycythemia due to Croatian homozygous VHL (571C> G: H191D) mutation is different from that of Chuvash polycythemia (VHL 598C> T: R200W). haematologica. 2013;98(4):560-7.
 46. Gordeuk VR, Miasnikova GY, Sergueeva AI, Niu X, Nouraie M, Okhotin DJ, et al. Chuvash polycythemia VHLR200W mutation is associated with down-regulation of hepcidin expression. Blood, The Journal of the American Society of Hematology. 2011;118(19):5278-82.
 47. Ang SO, Chen H, Gordeuk VR, Sergueeva AI, Polyakova LA, Miasnikova GY, et al. Endemic polycythemia in Russia: mutation in the VHL gene. Blood Cells, Molecules, and Diseases. 2002;28(1):57-62.
 48. Cayo E, Amaru R. Valores de hemoglobina en la población de Chorolque a 5.000 msnm. En proceso de publicación.

CARACTERIZACIÓN BIOLÓGICA DE LA ERITROCITOSIS PATOLÓGICA DE ALTURA

Amaru Ricardo, Quispe Teddy, Miguez Hortencia, Luna Julieta, Mancilla Silvia, Patón Daniela.

Unidad de Biología Celular, Facultad de Medicina, Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, Bolivia.

INTRODUCCIÓN

La eritrocitosis se caracteriza por el incremento patológico de la masa eritrocitaria en sangre circulante, incremento que ocurre por encima del límite normal establecido en cada región y está asociado al aumento de la hemoglobina y del hematócrito⁽¹⁻³⁾. Su cuadro clínico contempla síntomas de hiperviscosidad sanguínea caracterizadas por cefaleas, disneas, parestesias, tinnitus, hipersomnias, alteraciones del estado de conciencia, visión borrosa y mialgias⁽⁴⁻⁶⁾; además de, complicaciones sistémicas caracterizadas principalmente por eventos tromboticos, hipertensión arterial sistémica, hipertensión arterial pulmonar, hemorragia e insuficiencia cardiaca congestiva^(5, 7, 8).

Asimismo, la eritropoyesis tiene un rol importante en la caracterización de las eritrocitosis. La eritropoyesis entendida como el proceso de proliferación y diferenciación de la línea eritroide, desde células progenitoras hematopoyéticas hasta eritrocitos, está regulada por un delicado equilibrio entre la proliferación y la apoptosis de los eritrocitos. Las citocinas hematopoyéticas juegan un papel decisivo en la regulación de este equilibrio homeostático y la falta de estas citocinas inducen a la apoptosis celular^(9, 10). La eritropoyetina (EPO) es una citocina hematopoyética de linaje específico, importante en la proliferación, diferenciación y supervivencia de la línea eritroide⁽¹¹⁻¹³⁾. Todos esos procesos están regulados por proteínas antiapoptóticas que involucran a los reguladores Bcl-XL y Bim, de la familia Bcl-2⁽¹⁴⁻¹⁷⁾.

En condiciones patológicas por ejemplo, tal el caso de las neoplasias, el aumento de

la eritropoyetina puede producir eritrocitosis secundaria (ES)^(18, 19), o como en la Policitemia Vera (PV) las células clonales pueden provocar una eritrocitosis primaria adquirida^(20, 21), o también una mutación en el gen Receptor de la Eritropoyetina puede causar una eritrocitosis primaria congénita⁽²²⁻²⁴⁾.

La eritrocitosis en poblaciones residentes a grandes alturas presenta características fenotípicas variadas, unas relacionadas con eritropoyetina sérica baja, otras con eritropoyetina sérica normal o considerablemente aumentada; consiguientemente, el fenotipo clínico también es variado^(5, 25, 26).

De esta manera, el presente capítulo se centra en describir las características biológicas de la Eritrocitosis Patológica de Altura (EPA), estableciéndose como un tipo de eritrocitosis propio de habitantes residentes en las ciudades de La Paz y El Alto, regiones andinas con poblaciones Aymara^(27, 28).

PROCEDIMIENTOS

Material y métodos

Previo consentimiento informado, se obtuvo muestras de aspirado de médula ósea y sangre venosa periférica de 10 sujetos sanos como controles normales (CN) y de 30 pacientes con eritrocitosis patológicas (EPA, ES y PV), todos ellos varones y con radicatura en las ciudades de La Paz y El Alto a 3658 y 4150 m s. n. m. respectivamente. Conjuntamente, con base en la historia clínica, se recolectó datos clínicos de cada individuo.

Estudios Laboratoriales

Con el propósito de establecer las características biológicas de la Eritrocitosis Patológica de Altura, se consideró analizar las concentraciones hemoglobina (Hb) y hematocrito (Ht), la cuantificación de leucocitos y plaquetas, los niveles de hemoglobina fetal (Hbf) y metahemoglobina (MetHb), el recuento de reticulocitos, la medición de gasometría arterial, las concentraciones de eritropoyetina sérica; así como, realizar estudios concernientes a la mutación del gen $JAK2^{V617F}$, viabilidad de células progenitoras hematopoyéticas (CPH), sensibilidad de CPH a la eritropoyetina (EPO) y apoptosis celular.

Las concentraciones de hemoglobina y hematocrito fueron determinadas a partir de las muestras de sangre venosa periférica depositadas en tubos Vacutainer con EDTA (Becton Dickinson, Estados Unidos) y procesadas en un contador hematológico automático (Micro 60, Estados Unidos). Para confirmar la cuantificación, se realizaron estudios con técnicas manuales, utilizando una microcentrífuga (Hawksley, Inglaterra) para el hematocrito y técnica colorimétrica (Unico 1200 Spectrophotometer, Estados Unidos) para la concentración de hemoglobina.

Del mismo modo, la cuantificación de leucocitos y plaquetas se obtuvo de las muestras de sangre venosa periférica obtenidas en tubos con EDTA (Becton Dickinson, Estados Unidos) y procesadas en un contador hematológico automatizado (Micro 60, Estados Unidos).

La cuantificación de hemoglobina fetal se realizó por método fotolorimétrico con equipo *Emoglobina Fetale Kit* (Globe Diagnostic, Italia) en un espectrofotómetro (Unico1200 Spectrophotometer, Estados Unidos) y, fue revalidada mediante HPLC (High Pressure Liquid Chromatography). La metahemoglobina se determinó mediante el método de Malloy-Evelyn.

El recuento de reticulocitos se efectuó mediante microscopia, previa tinción con azul brillante de cresil. Asimismo, la gasometría se realizó en muestras de sangre obtenidas de la arteria radial

mediante un gasómetro automatizado (Critical Care Xpress, Nova Biomedical, Reino Unido).

La determinación de concentraciones de eritropoyetina sérica se realizó a partir de muestras de sangre venosa periférica depositadas en tubos Vacutainer SST II Advance (Becton Dickinson, Plymouth, Reino Unido) con el método de ELISA, utilizando un Kit comercial (R&D System, Estados Unidos) y un lector Stat Fax 2100 (Awareness Technologies Inc., Estados Unidos). Los resultados también fueron revalidados mediante análisis por quimioluminiscencia.

Al respecto de los otros estudios concernientes, se procedió a realizar ensayos laboratoriales a partir de las muestras de médula ósea obtenidas.

La determinación de la mutación del gen $JAK2^{V617F}$ se realizó a partir de la extracción de DNA de las células mononucleares de la médula ósea con el método fenol-cloroformo. Se utilizó 100 ng de DNA, 50 pM de los oligos JAK2R (5' CTGAATAGTCCTACAGTGTTCAGTTTCA3'), JAK2F (5' AGCATTGTTTAAATTATGGAGTATATT3') y JAK2FWT (5' ATCTATAGTCATGCTGAAAGTAGGAGAAAG3') para la amplificación por PCR (reacción en cadena de la polimerasa). La hibridación se realizó a 59°C, seguida de 35 ciclos de amplificación. El producto del PCR fue separado en gel de agarosa al 2 %, se observó una banda de 364 bp correspondiente al exón 12 del gen *Jak2* no mutado y otra banda de 203 bp correspondiente al gen $Jak2^{V617F}$ mutado.

Los estudios de cultivo celular se realizaron a partir de las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) de la médula ósea que fueron separadas por centrifugación en gradiente de densidad Histopaque 1077 (Sigma-Aldrich, Estados Unidos), luego fueron lavadas con tampón de lisis y RPMI1640 con suero fetal bovino al 2 %. Posteriormente, se realizó la cuantificación por citometría de flujo con anti-CD34 y la viabilidad se determinó con azul de tripano. Se cultivó 2×10^5 cel/mL de células progenitoras hematopoyéticas en cajas de Petri de 33 mm con grilla en metilcelulosa 1 mL (MethoCult H4230 Without Epo, StemCell Technologies, Canadá), penicilina 250 UI/mL,

estreptomycin 50 µg/mL y, suplementadas con y sin 2 UI/mL de eritropoyetina. Los cultivos se realizaron a 37°C y 5 % de CO₂, la lectura de las colonias BFU-E se realizó a los días 7 y 14 de acuerdo a criterios estandarizados.

La sensibilidad de las células progenitoras hematopoyéticas a la eritropoyetina se determinó por el método de cultivo celular; para ello, se cultivaron 2x10⁵ cel/mL de estas células en medio de metilcelulosa (Metho Cult 4531medium, StemCell Technologies Inc, Vancouver, Canadá) con penicilina 250 UI/mL, estreptomycin 50 µg/mL y suplementadas con eritropoyetina a las siguientes concentraciones: 0, 0.03, 0.06, 0.125, 0.250 y 2 U/mL.

El estudio de apoptosis celular se realizó con los métodos DNA ladder, cultivo de colonias BFU-E y anexina V/7AAD.

a) DNA ladder, se cultivó 5x10⁶cel/mL de células mononucleares en 700 µL de RPMI-1640 con 300 µL de suero fetal bovino, 2 nM de L-glutamina, 250 UI de penicilina, 50 µg de estreptomycin y, eritropoyetina (0 y 2 UI/mL). Los cultivos se realizaron en placas CCW (Corning Cell Well, Estados Unidos) a 37°C y 5% de CO₂; se recuperó células a los 1, 2, 7 y 14 días de cultivo. Posteriormente, estas células fueron adquiridas, lavadas con fosfato salino (PBS) y lisadas en solución de guanidinio; luego fueron expuestas a proteasa K. Se procedió a la incubación de células a 58°C por 60 minutos para luego separarlas mediante electroforesis en gel de agarosa al 2 %. El patrón de DNA ladder fue visualizado y fotografiado bajo luz ultravioleta.

b) Cultivo de colonias BFU-E, se empleó 2x10⁵ cel/mL de células progenitoras hematopoyéticas en metilcelulosa (Metho Cult 4531medium, StemCell Technologies Inc., Vancouver, Canadá) con 250 UI/mL de penicilina, 50 µg/mL de estreptomycin y 2 UI/mL de eritropoyetina. Los cultivos se realizaron en cajas de Petri de 35 mm, a 37°C y 5% de CO₂ durante 14 días. La lectura de BFU-E se realizó de acuerdo a criterios estandarizados.

c) Anexina-V/7AAD (Becton Dickinson, Pharmigen, Estados Unidos), se cultivó 5x10⁶cel/

mL de células mononucleares en RPMI-1640 al 30 % de suero fetal bovino con 2 nM de L-glutamina, 250 UI de penicilina, 50 µg de estreptomycin y 2 UI/mL de eritropoyetina, por un tiempo de 72 horas. Posteriormente, las células fueron marcadas con anexina V/7AAD siguiendo las recomendaciones del fabricante y analizadas en un citómetro de flujo FASCAN (Becton Dickinson, Estados Unidos).

CARACTERIZACIÓN BIOLÓGICA

Concentraciones de hemoglobina y hematocrito

Los controles normales (CN) presentaron un valor medio de hemoglobina de 16,2 g/dL (hematocrito 50,5 %); mientras tanto, los pacientes con Eritrocitosis Patológica de Altura (EPA) presentaron una concentración de hemoglobina de 20,3 g/dL (hematocrito 62 %), los pacientes con Eritrocitosis Secundaria (ES) tuvieron una hemoglobina de 22,8 g/dL (hematocrito 71 %), y los pacientes con Policitemia Vera (PV) reflejaron una hemoglobina de 20,0 g/dL (hematocrito 63 %). Se evidenció que los pacientes con EPA tienen concentraciones de hemoglobina y hematocrito estadísticamente diferentes a los de pacientes con ES y el grupo CN, pero similares a los de pacientes con PV (Cuadro 2).

Hemoglobina Fetal y Metahemoglobina

Se evidenció una concentración media de hemoglobina fetal de 0,42 % (metahemoglobina 0,55 %) en los CN; entretanto, los pacientes con EPA tuvieron una hemoglobina fetal de 0.61 % (metahemoglobina 0,79 %), los pacientes con ES una Hbf de 0,81 % (MetHb 0,47 %) y los pacientes con PV una Hbf de 0,48% (MetHb 0,41 %). Al respecto de estos valores, se observó que las concentraciones de hemoglobina fetal y la metahemoglobina en pacientes con EPA, ES y PV permanecieron dentro de los rangos normales (Cuadro 2).

Reticulocitos

Los controles sanos (CN) tuvieron una media del índice de reticulocitos de 1,3 %, los pacientes con EPA tuvieron 2,9 %, ES 3,6% y PV 2.1 %.

El análisis estadístico realizado para verificar las diferencias entre grupos evidenció que las eritrocitosis patológicas (EPA, ES y PV) presentaron un incremento del índice de reticulocitos, pero sin diferencias estadísticas entre ellas (Cuadro 2).

Leucocitos y Plaquetas

Los grupos estudiados presentaron una media respectiva de leucocitos y plaquetas de 6300/ μ L y 273 000/ μ L en CN, 7200/ μ L y 229 000/ μ L en EPA, 6600/ μ L y 193 000/ μ L en ES, así como 16 600/ μ L y 604 000/ μ L en PV.

Los datos analizados permitieron evidenciar que los pacientes con PV presentaron leucocitosis y trombocitosis; mientras que los pacientes con EPA y ES sostuvieron valores normales. La leucocitosis y la trombocitosis son características de la PV considerando que es una enfermedad neoplásica mieloproliferativa que compromete la línea mieloide (Cuadro 2).

Concentraciones de Eritropoyetina Sérica

Se evidenció una media de eritropoyetina sérica de 10 mU/mL en el grupo CN; 10,5 mU/mL en pacientes con EPA; 82,9 mU/mL en ES y 3 mU/mL en PV. Estos datos reflejaron una concentración de eritropoyetina sérica normal en pacientes con EPA, elevada en pacientes con ES y disminuida en los sujetos con PV (Figura 1).

Cuadro 1. Gasometría arterial en pacientes con eritrocitosis patológicas

	CN N=10	EPA N=15	ES N=10	PV N=5
pH (mmHg)	7.39 ($\pm$ 0.01)	7.41 ($\pm$ 0.02)	7.39 ($\pm$ 0.02)	7.42 ($\pm$ 0.02)
paCO ₂ (mmHg)	30.0 ($\pm$ 0.1)	34.1 ($\pm$ 3.3)	37.8 ($\pm$ 3.5)	27.5 ($\pm$ 3.8)
paO ₂ (mmHg)	60.2 ($\pm$ 0.4)	49.9 ($\pm$ 4.3)	43.4 ($\pm$ 1.6)	48.3 ($\pm$ 3.4)
Sat O ₂ %	93.2 ($\pm$ 1.6)	86.1 ($\pm$ 3.8)	78.3 ($\pm$ 2.7)	91 ($\pm$ 2.6)

CN: Controles Normales, EPA: Eritrocitosis Patológica de Altura, ES: Eritrocitosis Secundaria, PV: Policitemia Vera. Los datos observados corresponden a la media y los números entre paréntesis corresponden al Desvio Estándar.

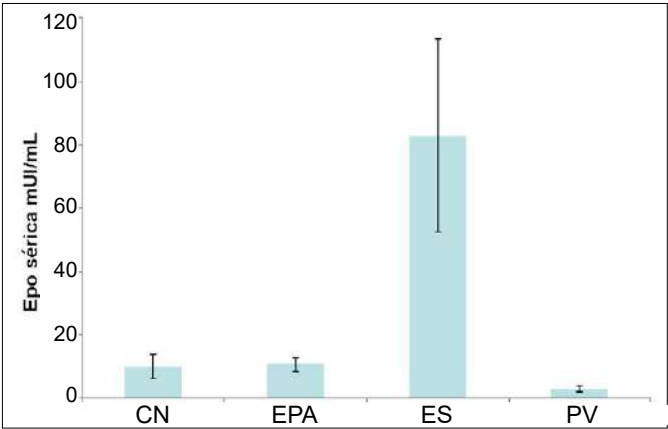


Figura 1. Concentraciones de Eritropoyetina Sérica. CN: Controles Normales, EPA: Eritrocitosis Patológica de Altura, ES: Eritrocitosis Secundaria, PV: Policitemia Vera.

Gasometría arterial

Se observó que, el pH de los cuatro grupos estudiados fue normal; la pCO₂ estuvo elevada tanto en ES como en EPA, pero más en la primera; la pO₂ estuvo disminuida en ES y EPA, pero más disminuida en ES; y que la saturación de O₂ estuvo disminuida en ES y en EPA (Cuadro 1).

El incremento de pCO₂, la disminución de pO₂ y la disminución de Sat O₂ reportados en la ES, probablemente se debieron a hemoglobina/hematócrito elevados, además de la etiología pulmonar que dificultó el intercambio gaseoso en este grupo de pacientes.

Mutación del gen Jak2^{V617F}

Las muestras de pacientes con PV reflejaron mutación del gen Jak2^{V617F}; mientras que, las muestras del grupo CN, pacientes con EPA y ES no tuvieron la presencia de esta mutación (Figura 2).

Colonias Eritroides Endógenas (CEE)

Se observó un crecimiento autónomo de las colonias eritrocitarias BFU-E (CEE) en PV y EPA, aunque el número de colonias fue menor en esta última (Figura 3).

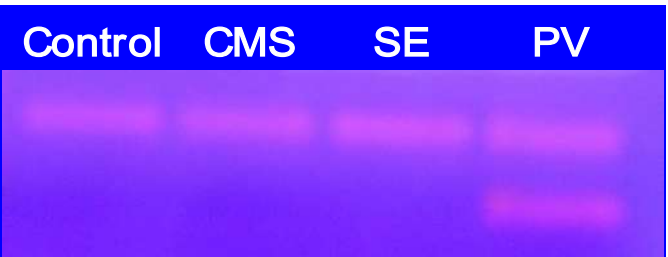


Figura 2. Mutación del gen JAK2^{V617F}. CN: Controles Normales, EPA: Eritrocitosis Patológica de Altura, ES: Eritrocitosis Secundaria, PV: Policitemia Vera.

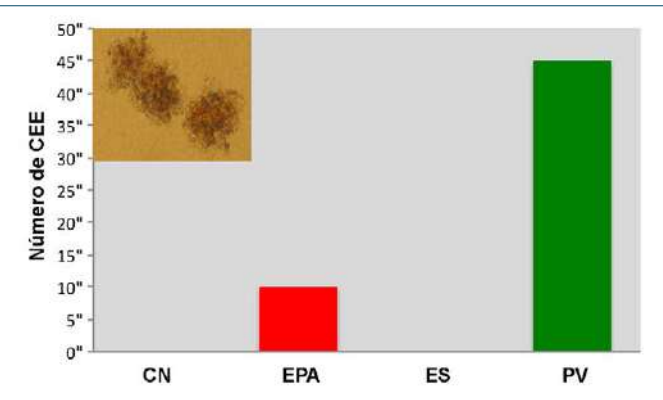


Figura 3. Colonias BFU-E Endógenas. CN: Controles Normales, EPA: Eritrocitosis Patológica de Altura, ES: Eritrocitosis Secundaria, PV: Policitemia Vera.

Sensibilidad de células progenitoras hematopoyéticas a la eritropoyetina

Los experimentos laboratoriales realizados permitieron evidenciar que, las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) de los pacientes con EPA y de pacientes con PV presentaron hipersensibilidad a la eritropoyetina; mientras que, las CPH de los CN y de pacientes con ES respondieron de manera normal a la dosificación de eritropoyetina (Figura 4).

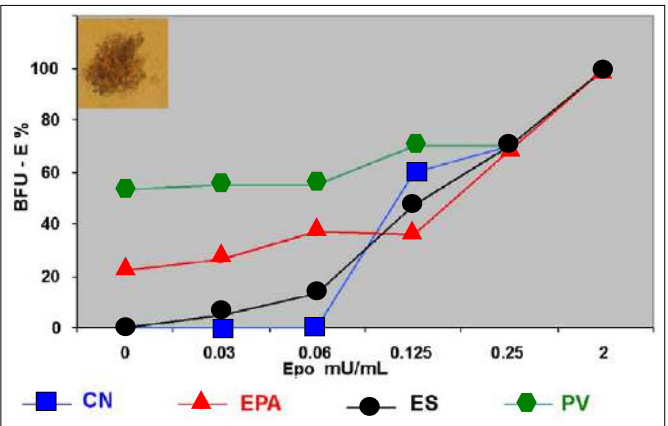


Figura 4. Sensibilidad a la eritropoyetina. CN: Controles Normales, EPA: Eritrocitosis Patológica de Altura, ES: Eritrocitosis Secundaria, PV: Policitemia Vera.

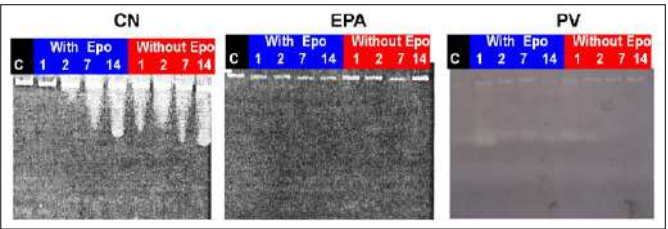


Figura 5. Apoptosis celular con método DNA ladder. CN: Controles Normales, EPA: Eritrocitosis Patológica de Altura, PV: Policitemia Vera. Los números representan los días de cultivo celular.

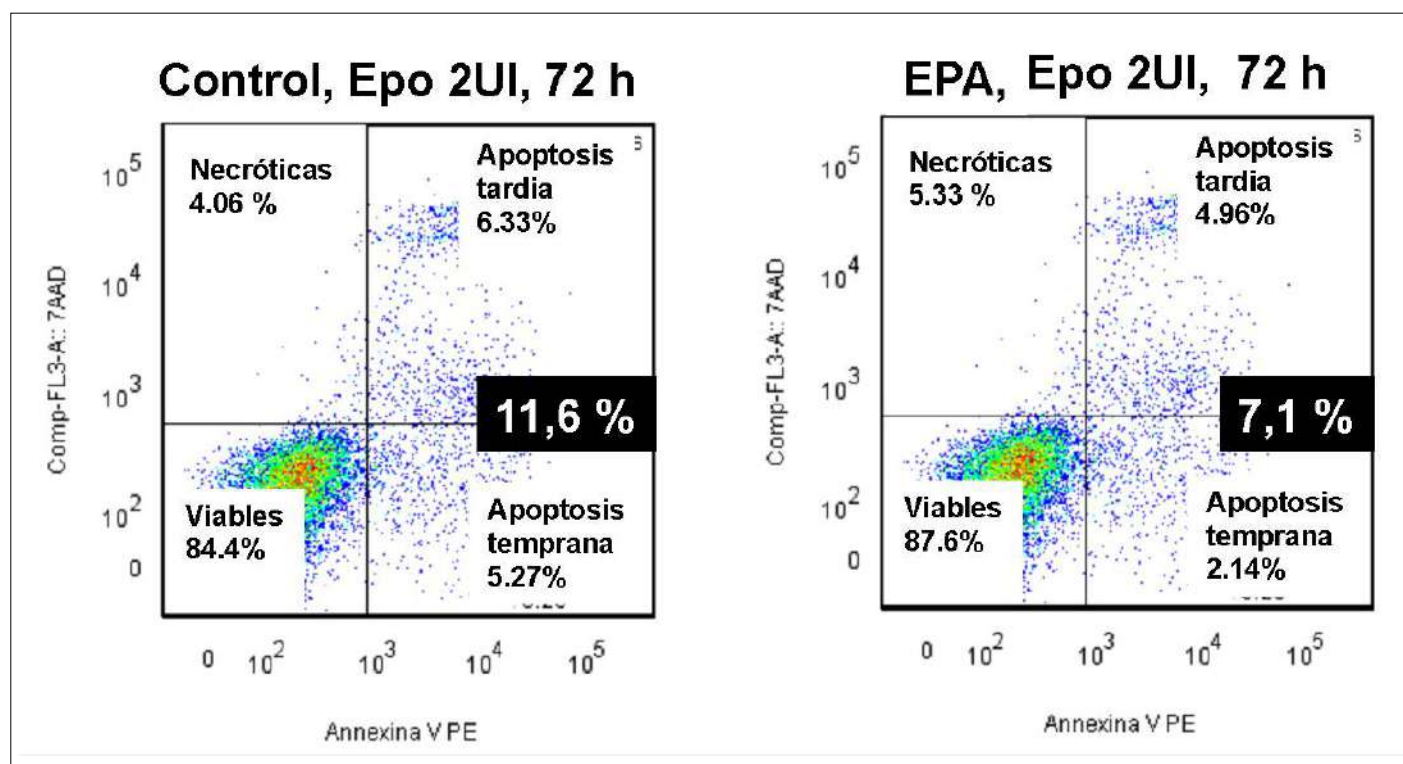


Figura 7. Apoptosis con método Anexina-V/7AAD. El análisis de la apoptosis por citometría de flujo demuestra que las CPH (CD71+) de los pacientes con EPA tienen una apoptosis retardada (7.1 %) en relación con sujetos controles (11.6 %), datos estadísticamente diferentes.

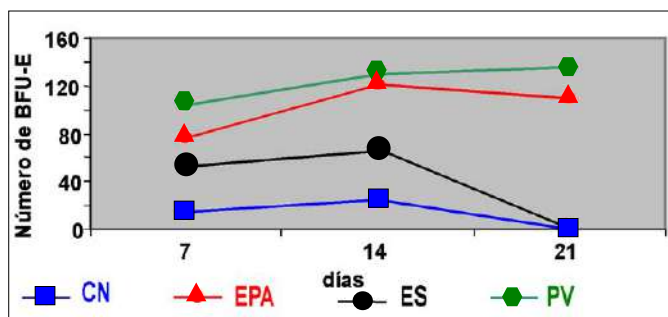


Figura 6. Apoptosis de colonias BFU-E. CN: Controles Normales, EPA: Eritrocitosis Patológica de Altura, ES: Eritrocitosis Secundaria, PV: Policitemia Vera. Los números 7, 14 y 21 representan los días de lectura de las colonias.

Apoptosis celular

Los estudios realizados a través de los distintos métodos (DNA ladder, colonias BFU-E y Anexina-V/7AAD) evidenciaron que, los progenitores eritropoyéticos de los pacientes con EPA y PV tuvieron una apoptosis celular retardada en relación a los otros grupos de estudio (Figuras 5, 6 y 7).

Asimismo, resulta relevante señalar que los datos descritos en este estudio pueden ser sustentados por los reportes de resultados de otros autores, esto considerando la apoptosis de células eritroides CD71+ (Figuras 8 y 9).

CONCLUSIONES

La Eritrocitosis Patológica de Altura es entendida como la manifestación hematológica de la enfermedad crónica de montaña (enfermedad de Monge) y está caracterizada por el aumento del número de eritrocitos, hemoglobina y hematócrito. Clínicamente se expresa por la existencia del síndrome de hiperviscosidad sanguínea y cianosis.

Considerando que las concentraciones de hemoglobina en condiciones normales y de enfermedad dependen de la edad, género, grupo étnico y altura de residencia⁽²⁹⁻³⁴⁾. Los valores normales de los habitantes de las ciudades de La Paz y El Alto en Bolivia oscilan entre 14 a 17 g/dL en las mujeres y entre 15 a 18 g/dL en los varones. Por ello, se considera eritrocitosis patológicas

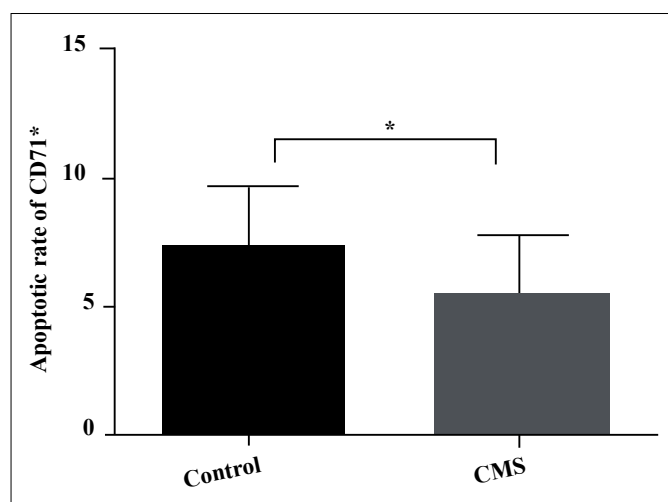


Figura 8. Tasa apoptótica. Tasa apoptótica de las células eritroides CD71+ en eritrocitosis de altura y grupo control. *Ma J. Blood Cells, Molecules, and Diseases.* 2019;76:25-31.

cuando las concentraciones de hemoglobina son mayores a 18 g/dL en las mujeres y mayores a 19 g/dL en los varones; estos puntos de corte se determinaron al considerar la existencia del síndrome de hiperviscosidad sanguínea en más de 80 % de los pacientes. También, es importante mencionar que, existen pacientes de ambos sexos que toleran hemoglobinas elevadas sin la presencia de sintomatología de hiperviscosidad sanguínea y así también se observa pacientes, sobre todo mujeres, que presentan este síndrome a valores inferiores al del punto de corte.

Las concentraciones de Hb en pacientes con EPA (20.2 g/dl) están incrementadas en relación a los valores normales para la altura y son inferiores en relación a los pacientes con ES, probablemente por el aumento de eritropoyetina en ese último grupo. Adicionando otros datos característicos en la EPA se observa que, los valores de Hb fetal y Metahemoglobina son normales, seguida de los niveles de eritropoyetina que también están dentro de los rangos normales. Probablemente, la etiopatogenia de la EPA sea la hipersensibilidad a la Eritropoyetina y la apoptosis retardada ⁽³⁵⁾.

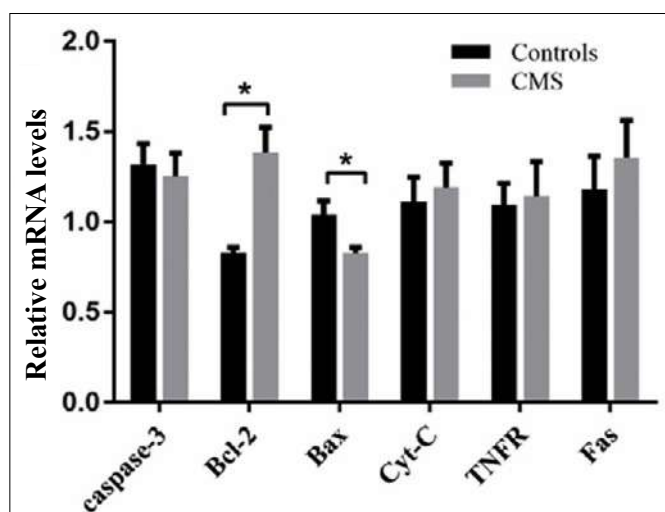


Figura 9. Genes relacionados con la apoptosis en eritroblastos. Incremento de la expresión de los niveles de mRNA del Bcl-2 y disminución de la expresión de Bax en células eritroides de pacientes con eritrocitosis de altura. *Ma J. Blood Cells, Molecules, and Diseases.* 2019; 76:25-31.

Dicha apoptosis probablemente se deba a un aumento de Bcl-2, y disminución de Bax^(17, 36, 37), y la hipersensibilidad a la eritropoyetina en varias eritrocitosis ha sido descrita con anterioridad por otros investigadores⁽³⁸⁻⁴⁰⁾.

Los reticulocitos aumentados en todas las eritrocitosis estudiadas expresan el aumento de la eritropoyesis en estos pacientes.

Otros estudios en curso, desarrollados por nuestra Unidad, sobre la afinidad de la Hb por el oxígeno (p50) en pacientes con EPA, empleando una fórmula matemática descrita por Lichtman^(41, 42), reflejan que la curva de disociación de p50 está desplazada a la derecha, probablemente para optimizar la entrega de oxígeno a los tejidos periféricos.

En resumen, la Eritrocitosis Patológica de Altura tiene características propias que la distinguen de las demás eritrocitosis patológicas; las características más representativas son la concentración normal de eritropoyetina sérica, apoptosis celular retardada, existencia de Colonias Eritroides Endógenas y ausencia de la mutación del gen JAK2^{V617F} (Cuadro 2).

Cuadro 2. Características biocelulares de la Eritrocitosis Patológica de Altura

	CN 10	EPA 15	ES 10	PV 5
Hemoglobina g/dl, media	16.2 (± 0.9)	20.3 (± 0.9)	22.8 (± 1.4)	20.0 (± 2.5)
Hemoglobina fetal %, media	0.42 (± 0.12)	0.61 (± 0.38)	0.81 (± 0.70)	0.48 (± 0.21)
Methemoglobina %, media	0.55 (± 0.35)	0.79 (± 0.91)	0.47 (± 0.27)	0.41 (± 0.27)
Reticulocitos, %	1.3 (± 0.1)	2.9 (± 1.3)	3.6 (± 1.2)	2.1 (± 0.3)
Leucocitos /ml	6 300 (± 1 600)	7 200 (± 1 900)	6 600 (± 1 700)	16 600 (± 4 800)
Plaquetas x10³ /ml	273 (± 80)	229 (± 58)	193 (± 54)	604 (± 177)
sEpo mUI/ml, media	10.0 (± 3.9)	10.5 (± 2.2)	82.9 (± 30.4)	3.0 (± 1.2)
JAK2^{V617F}, No. (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	5 (100)
CEE, media (rango)	0 (0.0 - 0.0)	10 (2 - 25)	0 (0.0 - 0.0)	45 (25 - 70)
Sensibilidad a Epo, Si/casos	0/3	3/3	0/3	3/3
Apoptosis celular	Normal	Retardada	Normal	Retardada

CN: Controles Normales, EPA: Eritrocitosis Patológica de Altura, ES: Eritrocitosis Secundaria, PV: Policitemia Vera. CEE: Colonias Eritroides Endógenas. Las cifras observadas corresponden a la media y los números entre paréntesis corresponden al Desvío Estándar.

Referencias

1. Finazzi G, Gregg XT, Barbui T, Prechal JT. Idiopathic erythrocytosis and other non-clonal polycythemia. Best Practice & Research Clinical Haematology. 2006;19(3):471-82.
2. McMullin M. The classification and diagnosis of erythrocytosis. International journal of laboratory hematology. 2008;30(6):447-59.
3. Lee G, Arcasoy MO. The clinical and laboratory evaluation of the patient with erythrocytosis. European journal of internal medicine. 2015;26(5):297-302.
4. Ruiz JMO, García AEG. Síndrome hipoxémico crónico. Revista española de cardiología suplementos. 2009;9(5):13-22.
5. Amaru R, Quispe T, Torres G, Mamani J, Aguilar M, Miguez H, et al. Caracterización clínica de la eritrocitosis patológica de altura. Revista de Hematología. 2016;17(1):8-20.
6. Amaru Lucana R, Vera Carrasco O. Guía para el diagnóstico y tratamiento de las eritrocitosis patológicas en la altura. Revista Médica La Paz. 2016;22(2):70-7.
7. Ricardo A, Miguez H, Peñaloza R, Torres G, Vera O, Velarde J, et al. Eritrocitosis patológica de altura: Caracterización biológica, diagnóstico y tratamiento. Revista Médica La Paz. 2013;19(2):5-18.
8. Amaru R, Vera O, Loza F, Patón D, Carrasco M, Quispe T. Hipertensión Arterial Pulmonar en Pacientes con Eritrocitosis Patológicas. Revista Médica La Paz. 2019;25(2):27-35.
9. Robb L. Cytokine receptors and hematopoietic differentiation. Oncogene. 2007;26(47):6715-23.
10. Suresh S, Rajvanshi PK, Noguchi CT. The many facets of erythropoietin physiologic and metabolic response. Frontiers in Physiology. 2020;10:1534.

11. Ganz T. Erythropoietic regulators of iron metabolism. *Free Radical Biology and Medicine*. 2019;133:69-74.
12. Eggold JT, Rankin EB. Erythropoiesis, EPO, macrophages, and bone. *Bone*. 2019;119:36-41.
13. Liu Q, Davidoff O, Niss K, Haase VH. Hypoxia-inducible factor regulates hepcidin via erythropoietin-induced erythropoiesis. *The Journal of clinical investigation*. 2012;122(12):4635-44.
14. Rademaker K, Hodgins G, Moore K, Zarrillo S, Miller C, Bromley GR, et al. Paleoindian settlement of the high-altitude Peruvian Andes. *Science*. 2014;346(6208):466-9.
15. Lorenzo FR, Huff C, Myllymäki M, Olenchok B, Swierczek S, Tashi T, et al. A genetic mechanism for Tibetan high-altitude adaptation. *Nature genetics*. 2014;46(9):951.
16. Pasha MQ, Newman JH. High-altitude disorders: pulmonary hypertension: pulmonary vascular disease: the global perspective. *Chest*. 2010;137(6):13S-9S.
17. Zhang Z-X, Cui S, Ji L-H, Li Z-Q, Chai K-X. Expressions of Bcl-2, Bcl-XL proteins in bone marrow tissue of patients with chronic mountain sickness. *Shandong Medical Journal*. 2012;2012(21):6.
18. Tandon R, Goel P, Kataria S, Saha PK, Punia R, Dimri K. Paraneoplastic erythrocytosis in a malignant ovarian steroid cell tumour. *Indian Journal of Hematology and Blood Transfusion*. 2014;30(1):54-5.
19. Suresh P, Rizk S. Myomatous Erythrocytosis Syndrome: Case Report and Review of the Literature. *Cureus*. 2020;12(2).
20. Barbui T, Finazzi G, editors. Therapy for polycythemia vera and essential thrombocythemia is driven by the cardiovascular risk. *Seminars in thrombosis and hemostasis*; 2007: Copyright© 2007 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New York.
21. Barbui T, Vannucchi AM, Finazzi G, Finazzi MC, Masciulli A, Carobbio A, et al. A reappraisal of the benefit-risk profile of hydroxyurea in polycythemia vera: A propensity-matched study. *American journal of hematology*. 2017;92(11):1131-6.
22. de La Chapelle A, Träskelin A, Juvonen E. Truncated erythropoietin receptor causes dominantly inherited benign human erythrocytosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1993;90(10):4495-9.
23. Ladroue C, Carcenac R, Leporrier M, Gad S, Le Hello C, Galateau-Salle F, et al. PHD2 mutation and congenital erythrocytosis with paraganglioma. *New England Journal of Medicine*. 2008;359(25):2685-92.
24. Semenza GL. The Genomics and Genetics of Oxygen Homeostasis. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*. 2020;21.
25. Amaru R, Villarroel M, Miguez H, Peñaloza R, Torres G, Barbui T, et al. Hematopoietic Progenitor Cells From Patients with Chronic Mountain Sickness Lack the JAK2V617F Mutation, Show Hypersensitivity to Erythropoietin and Are Inhibited by Statins. *American Society of Hematology*; 2009.
26. Arias A, Amaru R, Navia P, Peñaloza R, Torrez G, Vazquez A, et al. Alteraciones en el patron de apoptosis de células precursoras de eritrocitos en mujeres postmenopausicas con eritrocitosis patológica de la altura. *Cuad Hosp Clín*. 2000;46(2):31-40.
27. Klein HS. Cambios sociales en Bolivia desde 1952. *Temas Sociales*. 2003(24):32-57.
28. Diaz MP. La inserción socioeconómica y territorial de los migrantes aymaras en la ciudad de El Alto, Bolivia. *Economía, sociedad y territorio*. 2017;17(54):461-89.
29. González-Patiño A, Robinson-Ortiz A. Valores de referencia de hemoglobina en población Colombiana de 1 a 18 años por género y altitud: Universidad del Rosario.
30. Munares-García O, Gómez-Guizado G, Carpio B-D, Sánchez-Abanto J. Niveles de hemoglobina en gestantes atendidas en establecimientos del Ministerio de Salud del Perú, 2011. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 2012;29:329-36.
31. Bartolo-Marchena M, Pajuelo-Ramírez J, Obregón-Cahuay C, Bonilla Untiveros C, Racacha-Valladares E, Bravo-Rebatta F, editors. Propuesta de factor de corrección a las mediciones de hemoglobina por pisos altitudinales en menores de 6 a 59 meses de edad, en el Perú. *Anales de la Facultad de Medicina*; 2017: UNMSM. Facultad de Medicina.
32. Gaitán-González MJ, Echeverría-Arjonilla JC, Vargas-García C, Camal-Ugarte S, González-Camarena R. Valores de hemoglobina en mujeres embarazadas residentes en zonas de altitud media. *salud pública de México*. 2013;55(4):379-86.
33. Gonzales GF, Tapia V. Hemoglobina, hematocrito y adaptación a la altura: su relación con los cambios hormonales y el periodo de residencia multigeneracional. *Revista Med*. 2007;15(1):80-93.
34. Peñaloza R, Amaru R, Miguez H, Torres G, Araoz R, Alvarez G, et al. Influencia de la altura en la eritropoyesis del recién nacido. *Cuadernos Hospital de Clínicas*. 2007;52(1):17-9.

35. Li P, Huang J, Tian H-j, Huang Q-y, Jiang C-h, Gao Y-q. Regulation of bone marrow hematopoietic stem cell is involved in high-altitude erythrocytosis. *Experimental hematology*. 2011;39(1):37-46.
36. Ma J, Ji L, Li Z, Liu H, Zhao C, Xiong H, et al. Downregulation of intrinsic apoptosis pathway in erythroblasts contributes to excessive erythrocytosis of chronic mountain sickness. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*. 2019;76:25-31.
37. Ogunshola O, Moransard M, Gassmann M. Constitutive excessive erythrocytosis causes inflammation and increased vascular permeability in aged mouse brain. *Brain research*. 2013;1531:48-57.
38. Arcasoy MO, Karayal AF. Erythropoietin hypersensitivity in primary familial and congenital polycythemia: role of tyrosines Y285 and Y344 in erythropoietin receptor cytoplasmic domain. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 2005;1740(1):17-28.
39. Watowich SS, Xie X, Klingmuller U, Kere J, Lindlof M, Berglund S, et al. Erythropoietin receptor mutations associated with familial erythrocytosis cause hypersensitivity to erythropoietin in the heterozygous state. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 1999;94(7):2530-2.
40. Eridani S, Batten E, Sawyer B. Erythroid colony formation in primary thrombocythaemia: evidence of hypersensitivity to erythropoietin. *British journal of haematology*. 1984;56(1):157-61.
41. Lichtman Ma, Murphy Ms, Adamson Jw. Detection of mutant hemoglobins with altered affinity for oxygen: a simplified technique. *Annals of internal medicine*. 1976;84(5):517-20.
42. Agarwal N, Mojica-Henshaw MP, Simmons ED, Hussey D, Ou CN, Prchal JT. Familial polycythemia caused by a novel mutation in the beta globin gene: essential role of P50 in evaluation of familial polycythemia. *International journal of medical sciences*. 2007;4(4):232.

CARACTERIZACIÓN CLÍNICA DE LA ERITROCITOSIS PATOLÓGICA DE ALTURA

Amaru Ricardo, Quispe Teddy, Luna Julieta, Mancilla Silvia, Carrasco Mireya, Patón Daniela.

Unidad de Biología Celular, Facultad de Medicina, UMSA, La Paz, Bolivia.

Instituto Boliviano de Oncohematología 'Paolo Belli', La Paz, Bolivia.

INTRODUCCIÓN

La eritrocitosis es el incremento patológico de la masa eritrocitaria en la sangre circulante que se suscita como consecuencia de una eritropoyesis alterada ya sea en la proliferación, diferenciación o apoptosis celular⁽¹⁻³⁾. La regulación de la eritropoyesis conlleva un proceso complejo que implica la detección de oxígeno y la producción de eritropoyetina⁽⁴⁾. Una eritropoyesis normal produce 200 mil millones de eritrocitos por día, un equivalente de 40 ml de sangre entera recién formada⁽⁵⁾. Sin embargo, una eritropoyesis alterada da lugar a manifestaciones heterogéneas sean estas laboratoriales o clínicas.

En la altura, las eritrocitosis de importancia médica (Eritrocitosis Patológica de Altura, Eritrocitosis Secundaria, Policitemia Vera) tienen manifestaciones, laboratoriales y clínicas, de rasgos comunes y específicos^(1, 6, 7). Las manifestaciones laboratoriales están caracterizadas por el incremento de la hemoglobina y hematocrito, pero con características propias para cada una de las eritrocitosis^(1, 8, 9). De forma similar, las manifestaciones clínicas están representadas por síntomas de hiperviscosidad, pero con sintomatologías propias determinantes.

Es importante señalar que, el punto de corte de los valores de hemoglobina y hematocrito en el diagnóstico de eritrocitosis en una población depende de muchas variables, entre ellas edad, género, raza y altura de residencia^(10, 11). En la ciudad de La Paz, Bolivia, por ejemplo, se considera eritrocitosis cuando el paciente tiene hemoglobina superior a 18 g/dL en mujeres y superior a 19 g/dL en varones.

El cuadro clínico de las principales eritrocitosis patológicas en la altura se manifiesta mediante síntomas de hiperviscosidad sanguínea y complicaciones sistémicas. Los síntomas de hiperviscosidad se caracterizan por cefaleas, disneas, parestesias, tinnitus, hipersomnias, alteraciones del estado de conciencia, visión borrosa y mialgias⁽¹²⁻¹⁵⁾. Asimismo, las principales complicaciones sistémicas se caracterizan por eventos trombóticos, hipertensión arterial sistémica, hipertensión arterial pulmonar, hemorragia e insuficiencia cardíaca congestiva^(1, 16-20).

Cada uno de esos elementos poseen caracteres específicos que distinguen a las eritrocitosis unas de otras. La eritrocitosis secundaria (ES) por lo general manifiesta una afección cardiopulmonar y de obesidad^(14, 21-24); mientras que, la policitemia vera (PV) tiene síntomas propios de enfermedades neoplásicas como pérdida de peso y esplenomegalia⁽²⁵⁻²⁷⁾. Adicionalmente, la práctica médica ha permitido evidenciar que pacientes con daño pulmonar leve que viven a nivel del mar no presentan ninguna manifestación clínica; empero, estos mismos pacientes en grandes alturas tienen mayor riesgo de presentar eritrocitosis secundaria.

Considerando todo esto, este capítulo se centra en establecer las características clínicas de la Eritrocitosis Patológica de Altura (EPA), como una entidad clínica propia de los habitantes de regiones andinas a grandes alturas.

Cuadro 1. Características clínicas de pacientes con eritrocitosis patológicas y controles normales al momento del diagnóstico

	CN 15	EPA 17	ES 51	PV 8
Edad años, media (rangos)	36.5 (28-46)	49.3 (43-71)	51.2 (36-76)	60.0 (56-73)
Cefalea %	NA	17 (100%)	51 (100%)	8 (100%)
Disnea %	NA	17 (100%)	51 (100%)	8 (100%)
Parestesia %	NA	17 (100%)	51 (100%)	5 (62%)
Tinnitus %	NA	9 (53%)	24 (47%)	3 (50%)
Hipersomnía %	NA	8 (47%)	24 (47%)	1 (12%)
Cianosis	NA	17 (100%)	51 (100%)	8 (100%)
Trombosis %	0%	0%	6 (12%)	2 (25%)
HAS %	0%	2 (12%)	25 (49%)	1 (13%)
HAP %	0%	14 (70%)*	13 (72%)*	-

*CN: Controles Normales, EPA: Eritrocitosis Patológicas de Altura, ES: Eritrocitosis Secundaria, PV: Policitemia Vera. HAS: Hipertensión Arterial Sistémica, HAP: Hipertensión Arterial Pulmonar. * Corresponde al número de pacientes observados en estudios adicionales posteriores EPA=20 y ES=18.*

PROCEDIMIENTOS

Material y métodos

Con el propósito de determinar características clínicas, se llevó a cabo un estudio descriptivo que incluyó a 91 individuos, distribuidos en Controles Normales (CN=15), pacientes con Eritrocitosis Patológica de Altura (EPA=17), Eritrocitosis Secundaria (ES=51) y Policitemia Vera (PV=8). Todos los sujetos estudiados fueron varones con radicatura en las ciudades de La Paz y El Alto, Bolivia, a 3650 y 4150 m s.n. m. respectivamente. Así también, se recolectó los datos clínicos del historial médico de cada paciente.

Estudios clínicos

El seguimiento de los pacientes fue realizado mensualmente por consultorio externo. Los signos y síntomas evaluados fueron los síntomas de hiperviscosidad sanguínea, signos de aumento de la masa eritrocitaria, disminución de la saturación de oxígeno e hipervolemia.

El diagnóstico de los eventos trombóticos se confirmó con ecografía doppler y tomografía axial computarizada.

CARACTERIZACIÓN CLÍNICA

Clínica de las eritrocitosis

Las manifestaciones clínicas comunes de las eritrocitosis patológicas en la altura (EPA, ES, PV) se organizan de la siguiente manera (Cuadro 1):

- Síntomas de hiperviscosidad sanguínea: cefaleas, disneas, parestesias, tinnitus, hipersomnias, mialgias, visión borrosa y alteraciones del estado de conciencia.
- Signos de aumento de masa eritrocitaria: hiperemia.
- Signos de disminución de la saturación de oxígeno: cianosis periférica.
- Signos de hipervolemia: facies pletórica, ingurgitación venosa y edema.

Paralelamente, el Cuadro 1 permite evidenciar características clínicas específicas en cada una de las eritrocitosis.

Cefalea

La cefalea en la eritrocitosis es de tipo indefinida, la mayoría de los pacientes la describe como una “pesadez”, ubicada usualmente en la

región occipital, de intensidad moderada a leve con manifestación matutina; algunas veces el dolor puede despertar a los pacientes. Cuando la cefalea se asocia a Hipertensión Arterial Sistémica, el dolor se intensifica y no remite totalmente a analgésicos. En nuestro estudio, todos los pacientes con eritrocitosis patológicas (EPA, ES, PV) tuvieron cefalea, misma que se constituyó como el síntoma más frecuente y el primer motivo de consulta médica.

Disnea

Se manifiesta como otro de los síntomas comunes en pacientes con eritrocitosis patológicas (EPA, ES, PV), reportada como una disnea de medianos esfuerzos y con frecuencia asociada a palpitations precordiales. También, se la observa con mayor intensidad en pacientes con patologías pulmonares como fibrosis pulmonar y asma bronquial.

Parestesia

La parestesia se presenta generalmente en los miembros superiores e inferiores; se origina durante la noche mientras el paciente duerme y usualmente se asocia con la falta de movimiento. Según los resultados de nuestro estudio, se puede observar que todos los pacientes con EPA y ES tuvieron parestesias; sin embargo, sólo en un 62 % de los pacientes con PV manifestaron esta condición.

Tinnitus o acúfenos

Es manifestada como un silbido, soplo o chirrido, que probablemente se exacerba durante la noche debido a la disminución de los ruidos externos propios del día. Al respecto, se observó que el 50 % de los pacientes con eritrocitosis presentó acúfenos, pero estas remitieron luego de las primeras sangrías.

Hipersomnia

La hipersomnia en pacientes eritrocíticos es frecuente durante la marea alcalina posprandial y/o mientras observan la televisión. Según nuestros resultados, el 47 % de los pacientes con EPA y ES tuvo hipersomnia, y sólo 12 % de los pacientes con PV manifestó esta condición. Probablemente, el mayor porcentaje de hipersomnia en pacientes con

ES y EPA se deba a que ambos grupos tienen la $p\text{CO}_2$ incrementada en relación a pacientes con PV⁽¹⁾.

Cianosis periférica

Los pacientes con eritrocitosis presentan diversos grados de cianosis, que van desde leves hasta los más severos, y son evidenciables principalmente en los pulpejos de los dedos, los labios y los lóbulos de la oreja. Según nuestros resultados, el 100 % de los pacientes con eritrocitosis patológicas (EPA, ES, PV) presentó esta condición.

Adicionalmente, se puede observar que los pacientes con hábitos de tabaquismo, al igual que aquellos con afecciones pulmonares (fibrosis pulmonar), tuvieron cianosis más severas. Estos pacientes presentaron cianosis aún a concentraciones de Hb dentro de los parámetros normales establecidos. La severidad de la cianosis no está relacionada con el incremento de la Hb/Ht sino con la severidad de la patología pulmonar, así los pacientes con hábitos de tabaquismo pueden presentar cianosis a incrementos leves de Hb/Ht.

Prurito

El prurito se manifiesta habitualmente en los pacientes con PV (50 %) como un síntoma propio en pacientes con enfermedad mieloproliferativa y suele presentarse después de duchas con agua caliente. Contrastantemente, los pacientes con EPA y ES raras veces presentan esta afección.

Mialgias

Refieren a dolores musculares. Aproximadamente, un 50 % de los pacientes refiere dolores musculares en las piernas, estos dolores pueden exacerbarse con las caminatas.

Hiperemia

La manifestación de la hiperemia es evidenciable en las palmas de las manos, los labios y lóbulos de las orejas. En nuestro estudio, todos los pacientes con eritrocitosis patológicas tuvieron hiperemia; se observó que, a mayor concentración de hemoglobina-hematócrito mayor manifestación de hiperemia.

Hipervolemia

Sus signos se caracterizan por facies pletórica, ingurgitación venosa y edema en los miembros inferiores. Estos signos se manifiestan con mayor intensidad en pacientes con hemoglobina-hematócrito muy incrementados, son característicos en los pacientes con PV.

CONCLUSIONES

De esta manera, las eritrocitosis patológicas en la altura presentan manifestaciones clínicas comunes, pero con características específicas que las distinguen entre sí. Considerando la sintomatología del síndrome de hiperviscosidad sanguínea, los pacientes con eritrocitosis

patológicas conservan una triada compuesta por cefalea, disnea y parestesias como manifestaciones comunes, triada que constituye los síntomas principales por los cuales los pacientes acuden a la consulta médica. En lo concerniente a las características específicas de cada eritrocitosis, resulta significativo valorar los parámetros y frecuencia de cada sintomatología para realizar un diagnóstico presuntivo (Cuadro 1). La Eritrocitosis Patológica de Altura (EPA) en particular tiene como características específicas la ausencia de eventos trombóticos, no presencia de patología cardiopulmonar, ni obesidad, ni esplenomegalia, y en caso de cianosis esta generalmente es leve.

Referencias

1. Amaru R, Quispe T, Torres G, Mamani J, Aguilar M, Miguez H, et al. Caracterización clínica de la eritrocitosis patológica de altura. *Revista de Hematología*. 2016;17(1):8-20.
2. Finazzi G, Gregg XT, Barbui T, Prchal JT. Idiopathic erythrocytosis and other non-clonal polycythemia. *Best Practice & Research Clinical Haematology*. 2006;19(3):471-82.
3. Prchal JT, Sokol L. "Benign erythrocytosis" and other familial and congenital polycythemia. *European journal of haematology*. 1996;57(4):263-8.
4. Eggold JT, Rankin EB. Erythropoiesis, EPO, macrophages, and bone. *Bone*. 2019;119:36-41.
5. Muckenthaler MU, Rivella S, Hentze MW, Galy B. A red carpet for iron metabolism. *Cell*. 2017;168(3):344-61.
6. Prchal JT. Polycythemia vera and other primary polycythemia. *Current opinion in hematology*. 2005;12(2):112-6.
7. Vannucchi AM, Antonioli E, Guglielmelli P, Rambaldi A, Barosi G, Marchioli R, et al. Clinical profile of homozygous JAK2 617V> F mutation in patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2007;110(3):840-6.
8. McMullin M. The classification and diagnosis of erythrocytosis. *International journal of laboratory hematology*. 2008;30(6):447-59.
9. Lee G, Arcasoy MO. The clinical and laboratory evaluation of the patient with erythrocytosis. *European journal of internal medicine*. 2015;26(5):297-302.
10. Gonzales GF, Tapia V. Hemoglobina, hematocrito y adaptación a la altura: su relación con los cambios hormonales y el periodo de residencia multigeneracional. *Revista Med*. 2007;15(1):80-93.
11. Peñaloza R, Amaru R, Miguez H, Torres G, Araoz R, Alvarez G, et al. Influencia de la altura en la eritropoyesis del recién nacido. *Cuadernos Hospital de Clínicas*. 2007;52(1):17-9.
12. Arregui A, Leon-Velarde F, Cabrera J, Paredes S, Vizcarra D, Umeres H. Migraine, polycythemia and chronic mountain sickness. *Cephalalgia*. 1994;14(5):339-41.
13. Ruiz JMO, García AEG. Síndrome hipoxémico crónico. *Revista española de cardiología suplementos*. 2009;9(5):13-22.
14. Ricardo A, Miguez H, Peñaloza R, Torres G, Vera O, Velarde J, et al. Eritrocitosis patológica de altura: Caracterización biológica, diagnóstico y tratamiento. *Revista Médica La Paz*. 2013;19(2):5-18.
15. Shen Y, Zhang J, Yang J, Liu C, Bian S, Zhang C, et al. Association of EPAS1 and PPARA Gene Polymorphisms with High-Altitude Headache in Chinese Han Population. *BioMed research international*. 2020;2020.
16. Naeije R, Vanderpool R. Pulmonary hypertension and chronic mountain sickness. *High altitude medicine & biology*. 2013;14(2):117-25.
17. Penaloza D, Arias-Stella J. The heart and pulmonary circulation at high altitudes: healthy highlanders and chronic mountain sickness. *Circulation*. 2007;115(9):1132-46.
18. Amaru R, Vera O, Loza F, Patón D, Carrasco M, Quispe T. Hipertensión Arterial Pulmonar en Pacientes con Eritrocitosis Patológicas. *Revista Médica La Paz*. 2019;25(2):27-35.

19. Prchal JT. Elevated hematocrit, risk of thrombosis, and polycythemia vera. *Blood*. 2003;101(11):4229-.
20. León-Velarde F, Arregui A, Monge C, y Ruiz HR. Aging at high altitudes and the risk of chronic mountain sickness. *Journal of Wilderness Medicine*. 1993;4(2):183-8.
21. Pasha MQ, Newman JH. High-altitude disorders: pulmonary hypertension: pulmonary vascular disease: the global perspective. *Chest*. 2010;137(6):13S-9S.
22. Whayne Jr TF. Cardiovascular medicine at high altitude. *Angiology*. 2014;65(6):459-72.
23. Zwillich CW, Sutton FD, Pierson DJ, Creagh EM, Weil JV. Decreased hypoxic ventilatory drive in the obesity-hypoventilation syndrome. *The American journal of medicine*. 1975;59(3):343-8
24. Vlahakos DV, Kosmas EN, Dimopoulou I, Ikonomou E, Jullien G, Vassilakos P, et al. Association between activation of the renin-angiotensin system and secondary erythrocytosis in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *The American journal of medicine*. 1999;106(2):158-64.
25. Barbui T, Thiele J, Vannucchi AM, Tefferi A. Myeloproliferative neoplasms: morphology and clinical practice. *American journal of hematology*. 2016;91(4):430-3.
26. Raedler LA. Diagnosis and management of polycythemia vera: proceedings from a multidisciplinary roundtable. *American health & drug benefits*. 2014;7(7 suppl3):S36.
27. Stein BL, Oh ST, Berenzon D, Hobbs GS, Kremyanskaya M, Rampal RK, et al. Polycythemia vera: an appraisal of the biology and management 10 years after the discovery of JAK2 V617F. *Journal of Clinical Oncology*. 2015;33(33):3953.

COMPLICACIONES EN LA ERITROCITOSIS PATOLÓGICA DE ALTURA

Amaru Ricardo, Quispe Teddy, Luna Julieta, Mancilla Silvia, Mamani Reyna, Velarde Jeaneth, Paton Daniela.

Unidad de Biología Celular, Facultad de Medicina, UMSA, La Paz, Bolivia.
Instituto Boliviano de Oncohematología 'Paolo Belli', La Paz, Bolivia.

INTRODUCCIÓN

Las eritrocitosis patológicas suelen presentar complicaciones que agravan el cuadro clínico y requieren una atención médica de urgencia. Entre las complicaciones más frecuentemente observadas, están los eventos tromboticos, la Hipertensión Arterial Sistémica (HAS), la Hipertensión Arterial Pulmonar (HAP), las hemorragias e insuficiencias cardíacas^(1, 2). Asimismo, es probable que la frecuencia de estas complicaciones sea más evidente en la Policitemia Vera (PV) por tratarse de una patología oncohematológica^(3, 4); seguidamente, en la Eritrocitosis Secundaria (ES) por asociarse a comorbilidades como obesidad y enfermedades cardiopulmonares^(2, 5).

Considerando lo anterior, este capítulo se centra en describir las complicaciones relacionadas con la Eritrocitosis Patológica de Altura (EPA).

PROCEDIMIENTOS

Material y métodos

Se llevó a cabo un estudio descriptivo para determinar las complicaciones de las eritrocitosis patológicas en la altura. Se consideró 175 varones con radicatorias en las ciudades de La Paz y El Alto, Bolivia, a 3650 y 4000 m s. n. m. respectivamente. Los individuos fueron distribuidos en controles normales (CN= 100), pacientes con Eritrocitosis Patológica de Altura (EPA= 16), Eritrocitosis Secundaria (ES= 51) y Policitemia Vera (PV= 8). Se recolectó datos clínicos de la historia médica de cada paciente.

Estudios clínicos

Los eventos tromboticos fueron corroborados por Ecodoppler a color y tomografía computarizada. La Hipertensión Arterial Pulmonar (HAP) fue valorada por ecocardiografía.

Se realizó seguimiento de los pacientes de forma mensual por consultorio externo. Las complicaciones indagadas y evaluadas fueron: presencia de episodios tromboticos, hipertensión arterial sistémica, hipertensión arterial pulmonar, hemorragia e insuficiencia cardíaca congestiva.

COMPLICACIONES EN LAS ERITROCITOSIS

Evento trombotico

Los pacientes con PV presentaron evento trombotico en un 25 %, seguido de pacientes con ES en un 12 %; mientras que, los pacientes con EPA no presentaron estos eventos (Figura 1).

El evento trombotico más frecuentemente observado fue la Trombosis Venosa Profunda (TVP); mientras que, la trombosis mesentérica, tromboembolia pulmonar y trombosis en vena porta fueron poco frecuentes. Estos últimos 3 generalmente se asociaron a comorbilidades como la obesidad mórbida, la dislipidemia y la Hipertensión Arterial Sistémica (Cuadro 1).

Estos pacientes con eventos tromboticos fueron sometidos a sangrías terapéuticas de 450 ml sin reposición, cada semana hasta alcanzar concentraciones de hemoglobina menores a 18 g/dl. Este importante procedimiento terapéutico, así como el tratamiento anticoagulante con

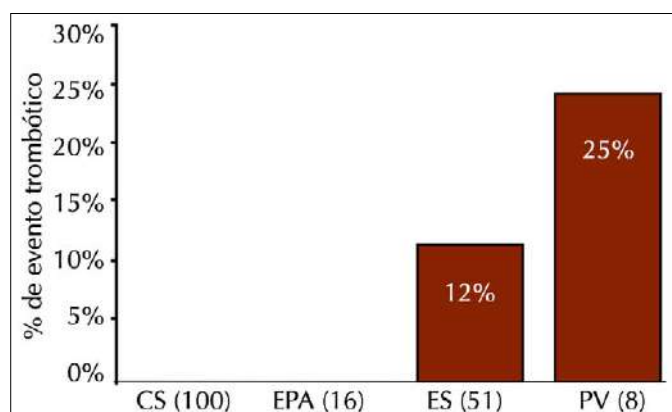


Figura 1. Eventos trombóticos en pacientes con eritrocitosis patológicas. *CN: Controles Normales, EPA: Eritrocitosis Patológica de Altura, ES: Eritrocitosis Secundaria, PV: Policitemia Vera.*

heparina y, posteriormente con warfarina fueron adecuados para la remisión completa del evento trombótico.

La duración del tratamiento con anticoagulantes depende de la evolución clínica, que podría durar 6 meses y luego continuar con ASA 100 mg por vía oral. En caso de otro evento trombótico, el periodo de anticoagulación debe ser por tiempo indefinido. En los últimos años, el uso de rivaroxaban o apixaban han sido introducidos en el tratamiento de trombosis secundaria a eritrocitosis. Sin embargo, estudios comparativos sobre el uso de estos anticoagulantes, de la warfarina específicamente, en pacientes con trombosis secundaria a eritrocitosis no han sido reportados.

Hipertensión Arterial Sistémica (HAS)

La HAS es otra de las complicaciones presentes en las eritrocitosis, un 13 % de los pacientes con EPA y un 49 % de los pacientes con ES manifestaron hipertensión arterial sistémica. Estas complicaciones se normalizaron posterior a las sangrías terapéuticas, con excepción de algunos pacientes con ES (12 %) que continuaron con este cuadro clínico, además estos pacientes presentaban comorbilidades como obesidad y dislipidemia (Figura 2 y Cuadro 2).

Es importante señalar que, los pacientes con

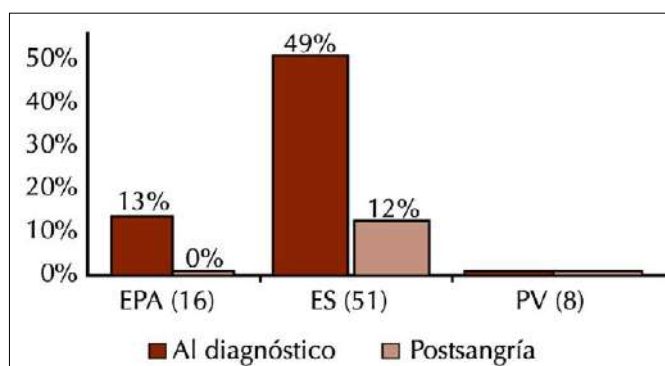


Figura 2. Hipertensión Arterial Sistémica en pacientes con eritrocitosis patológicas. *EPA: Eritrocitosis Patológica de Altura, ES: Eritrocitosis Secundaria, PV: Policitemia Vera.* Las barras claras representan la HAS al momento de diagnóstico y las barras guindas a post sangrías.

HAS asociada a eritrocitosis patológicas requieren mantener los niveles de hemoglobina por debajo de la media aritmética normal, es decir, por debajo de 16.5 g/dl (normal 15-18 g/dl) en varones y por debajo de 15.5 g/dl (normal 14 – 17 g/dl) en mujeres; ya que cuando la Hb incrementa la HAS empieza a descompensarse.

Hipertensión Arterial Pulmonar (HAP)

Los pacientes con ES (72 %) y PV (70 %) presentaron esta complicación. Se evidenció que, a mayores concentraciones de hemoglobina-hematócrito y eritropoyetina, mayores fueron los valores de HAP. Esta disminuyó notablemente luego de realizar sangrías, aunque sin llegar a valores normales.

Por la frecuencia de HAP en los pacientes con eritrocitosis, es necesario estudiar la presencia de esta y prever su tratamiento; precisándose para ello, realizar estudios de ecocardiografía y determinar la presión arterial sistólica pulmonar. Considerando la importancia del tema, se ha dedicado un capítulo aparte para analizar esta complicación.

Epistaxis

Esta complicación se presentó aproximadamente en 5 % de los pacientes, y la mayoría de estos presentaron presión arterial elevada y valores de Hb/Ht incrementados.

Cuadro 1. Comorbilidades asociadas a trombosis en pacientes con eritrocitosis patológicas

Dx	Edad años	Comorbilidad	Hb g/dl	P/A diagnóstico	Trombosis
PV	60	No	23.5	130/88	Vena Porta
PV	73	Diabetes, HAS	18.7	150/120	TVP
ES	68	Obesidad, varices	19.1	105/90	TVP
ES	38	Obesidad, varices	22.9	125/90	TVP
ES	64	Obesidad	21.3	114/80	Mesenterio
ES	71	Dislipidemia	19.0	110/80	Vena porta
ES	43	Obesidad	18.8	110/80	TEP
ES	38	Obesidad, HAS	22.9	126/90	TVP

PV: Policitemia Vera, ES: Eritrocitosis Secundaria, HAS: Hipertensión Arterial Sistémica, TVP: Trombosis Venosa Profunda, TEP: Tromboembolia Pulmonar.

Cuadro 2. Comorbilidades de pacientes con Eritrocitosis Secundaria

DX	Edad años	Evolución años	Comorbilidad	Hb g/dl	P/A presangría	P/A postsangría
ES	42	2	Obesidad	25.3	140/102	120/90
ES	53	10	Obesidad, HAS	20.9	150/120	130/90
ES	38	5	Obesidad, HAS	22.9	126/90	150/110

ES: Eritrocitosis Secundaria, HAS: Hipertensión Arterial Sistémica, P/A: Presión Arterial.

La epistaxis remite con las sangrías, y no requiere otro tratamiento en general.

Insuficiencia Cardíaca Congestiva (ICC)

Dos de los pacientes observados reportaron esta afección, estos tuvieron rasgos de obesidad y hematócrito superior a 70 % en común. El cuadro clínico remitió con sangrías de volúmenes menores (100 mL/día) hasta alcanzar concentraciones normales de hemoglobina-hematócrito.

Convulsiones

Esta complicación se observó en un solo paciente, quien tuvo hematocrito superior a 70 % y saturación de oxígeno inferior a 70 %. La prescripción de ácido valproico fue necesaria.

Desprendimiento de retina

Dos casos de desprendimiento de la retina se asociaron con eritrocitosis. Si bien no se documentó estos casos, el único evento que se asoció en ese momento fue la presencia de eritrocitosis.

CONCLUSIONES

Considerando un seguimiento por más de 6 años, los pacientes con EPA no presentaron episodios trombóticos, probablemente porque una eritrocitosis aislada no es un factor de riesgo en estos pacientes^(6, 7); sin embargo, estos eventos fueron frecuentes en PV⁽⁸⁻¹¹⁾ y ES⁽¹²⁾, en el caso de la PV por la existencia de factores procoagulantes propios de una enfermedad neoplásica y en la ES por la presencia de comorbilidades como obesidad y dislipidemia.

Existen estudios sobre pacientes con PV, a nivel del mar, que reportan un 27 % de eventos trombóticos representándolo a un 31 % de las causas de muerte⁽¹³⁾. Nuestro estudio no consideró las causas de muerte por evento trombótico, dado que no se presentó esta circunstancia en nuestros pacientes.

La eritrocitosis patológica de altura (EPA) tiene como principales complicaciones la hipertensión arterial sistémica y la hipertensión arterial pulmonar, ambas secundarias a hipervolemia y probablemente por el incremento de eritropoyetina sérica.

Las complicaciones en las eritrocitosis patológicas generalmente remiten con la primera sangría, estas deben continuar con sangrías de 450 ml sin reposición cada semana hasta alcanzar

valores normales de hemoglobina, menor a 18 g/dl en varones y menor a 17 g/dl en mujeres. El resumen de las complicaciones de las eritrocitosis patológicas en altura están detalladas en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Complicaciones clínicas en pacientes con eritrocitosis patológicas

	CN	EPA	ES	PV
Trombosis %	0	0	12	25
HAS %	0	12	49	13
HAP %	0	70	72	-
Ventrículo der dilatado %	0	35	72	-
Insuficiencia tricuspídea %	0	90	89	-
Aurícula der dilatado %	0	20	28	-

CN: Controles Normales, EPA: Eritrocitosis Patológicas de Altura, ES: Eritrocitosis Secundaria, PV: Policitemia Vera, HAS: Hipertensión Arterial Sistémica, HAP: Hipertensión Arterial Pulmonar.

Referencias

1. Amaru R, Quispe T, Torres G, Mamani J, Aguilar M, Miguez H, et al. Caracterización clínica de la eritrocitosis patológica de altura. *Revista de Hematología*. 2016;17(1):8-20.
2. Ricardo A, Miguez H, Peñaloza R, Torres G, Vera O, Velarde J, et al. Eritrocitosis patológica de altura: Caracterización biológica, diagnóstico y tratamiento. *Revista Médica La Paz*. 2013;19(2):5-18.
3. De Stefano V, Za T, Rossi E, Vannucchi AM, Ruggeri M, Elli E, et al. Recurrent thrombosis in patients with polycythemia vera and essential thrombocythemia: incidence, risk factors, and effect of treatments. *haematologica*. 2008;93(3):372-80.
4. Landolfi R, Cipriani MC, Novarese L. Thrombosis and bleeding in polycythemia vera and essential thrombocythemia: pathogenetic mechanisms and prevention. *Best Practice & Research Clinical Haematology*. 2006;19(3):617-33.
5. Rodríguez AE, Obradors LL, Esquiús NP, Muñoz FR, Gonzalez NE, Marcuello EA. Síndrome de obesidad-hipoventilación y factores asociados. *Medicina Clínica*. 2018;150(4):125-30.
6. Landolfi R, Di Gennaro L, Barbui T, De Stefano V, Finazzi G, Marfisi R, et al. Leukocytosis as a major thrombotic risk factor in patients with polycythemia vera. *Blood*. 2007;109(6):2446-52.
7. Carobbio A, Antonioli E, Guglielmelli P, Vannucchi AM, Delaini F, Guerini V, et al. Leukocytosis and risk stratification assessment in essential thrombocythemia. *Journal of Clinical Oncology*. 2008;26(16):2732-6.
8. Tefferi A, Elliott M, editors. Thrombosis in myeloproliferative disorders: prevalence, prognostic factors, and the role of leukocytes and JAK2V617F. *Seminars in thrombosis and hemostasis*; 2007: Copyright© 2007 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New York.
9. Bartalucci N, Guglielmelli P, Vannucchi AM. Polycythemia vera: the current status of preclinical models and therapeutic targets. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*. 2020(just-accepted).
10. Krečak I, Lucijanić M, Gverić-Krečak V, Duraković N. Hyperuricemia might promote thrombosis in essential thrombocythemia and polycythemia vera. *Leukemia & Lymphoma*. 2020:1-4.
11. Zhang Y, Zhou Y, Wang Y, Teng G, Li D, Wang Y, et al. Thrombosis among 1537 patients with JAK2V617F-mutated myeloproliferative neoplasms: Risk factors and development of a predictive model. *Cancer Medicine*. 2020;9(6):2096-105.
12. Gordeuk VR, Key NS, Prchal JT. Re-evaluation of hematocrit as a determinant of thrombotic risk in erythrocytosis. *haematologica*. 2019;104(4):653-8.
13. Nand S, Orfei E. Pulmonary hypertension in polycythemia vera. *American journal of hematology*. 1994;47(3):242-4.

HIPERTENSIÓN ARTERIAL PULMONAR EN PACIENTES CON ERITROCITOSIS PATOLÓGICAS

Amaru Ricardo, Vera Oscar, Loza Felix, Patón Daniela, Carrasco Mireya, Quispe Teddy.

Unidad de Biología Celular, Facultad de Medicina, UMSA, La Paz, Bolivia.

Instituto Boliviano de Oncohematología 'Paolo Belli', La Paz, Bolivia.

Cátedra de Farmacología, Facultad de Medicina, UMSA, La Paz, Bolivia.

Cátedra de Cardiología, Facultad de Medicina, UMSA, La Paz, Bolivia.

INTRODUCCIÓN

La eritrocitosis es un trastorno hematológico caracterizado por el incremento patológico de la masa eritrocitaria en la sangre circulante que ocurre por encima del límite normal establecido en cada región y, también está asociada al aumento de la hemoglobina y el hematócrito⁽¹⁾. Es un trastorno frecuente en poblaciones residentes en la altura, donde las principales eritrocitosis patológicas de importancia clínica son la Eritrocitosis Patológica de Altura (EPA), Eritrocitosis Secundaria (ES) y Policitemia Vera (PV), patologías que engloban más del 98 % de todas las eritrocitosis patológicas.

En la práctica médica diaria, la EPA constituye el 7 % de las eritrocitosis patológicas, la ES 90 % y PV 1 % aproximadamente⁽²⁾. El cuadro clínico de estas eritrocitosis patológicas se manifiesta mediante síntomas de hiperviscosidad sanguínea y complicaciones sistémicas. Los síntomas de hiperviscosidad se caracterizan por cefaleas, parestesias, acúfenos, hipersomnias y disneas; así mismo, las principales complicaciones sistémicas se caracterizan por episodios trombóticos, hemorragia, insuficiencia cardíaca congestiva, hipertensión arterial sistémica (HAS) e hipertensión arterial pulmonar (HAP)⁽¹⁾.

La Hipertensión Arterial Pulmonar (HAP) es un trastorno hemodinámico grave donde la presión de la arteria pulmonar se eleva de forma persistente conduciendo a una insuficiencia cardíaca derecha y probabilidad de muerte⁽³⁾. La HAP es una de las complicaciones de las eritrocitosis patológicas en la altura, pero su frecuencia aún es desconocida.

Además, factores como el aumento de masa eritrocitaria, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y la presión barométrica baja desempeñan un papel importante en la etiopatogenia y severidad de la HAP en este tipo de pacientes.

Un método de elección para el diagnóstico de HAP es la cateterización del corazón derecho, pero debido a su naturaleza agresiva es poco utilizada. Considerando esto, la Ecocardiografía Transtorácica (ETT) es un método considerado no invasivo, es de fácil uso y se ha constituido en una herramienta fundamental para la detección y el cribado de la HAP⁽⁴⁾. El uso de este método se basa en la medición indirecta de la presión arterial pulmonar sistólica (PAPs), tiene una sensibilidad del 90 % y una especificidad del 75 %⁽⁵⁾.

La PAPs a nivel del mar es de 11 a 29 mmHg y en la altura (ciudad de La Paz, 3650 m s. n. m.) es de 30 a 38 mmHg; sin embargo, en la clínica médica se considera HAP cuando la PAPs está por encima de 35 mmHg⁽⁶⁾.

Se conoce que, la HAP en pacientes con enfermedad mieloproliferativa crónica (EMPC) constituye un 3.8 %, y de estos la mitad se debe a mielofibrosis y la otra mitad a etiología cardiopulmonar y tromboembolismo pulmonar⁽⁷⁾. No obstante, la incidencia de la HAP en pacientes con eritrocitosis patológicas, así como su prevalencia en diferentes niveles de gravedad y factores asociados aún se desconocen.

De esta manera, el presente capítulo está centrado en establecer la incidencia y la severidad de la HAP en pacientes con eritrocitosis patológicas en la altura.

PROCEDIMIENTOS

Material y Métodos

Se realizó un estudio prospectivo en 44 sujetos varones consecutivamente observados en consulta ambulatoria durante el período comprendido entre 2011-2012, distribuidos en controles normales (N= 6) y pacientes con diagnósticos de eritrocitosis patológicas (N= 38). De un total de 38 sujetos varones con eritrocitosis patológicas, 18 pacientes presentaron diagnóstico de Eritrocitosis Secundaria (ES) y 20 diagnóstico de Eritrocitosis Patológica de Altura (EPA). La edad media de los sujetos control fue 49 años y de los pacientes sometidos al estudio fue 46 años de edad. Las características clínicas y laboratoriales se detallan en el Cuadro 1.

Se excluyó del estudio a pacientes con Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC), asma bronquial, insuficiencia cardíaca congestiva, valvulopatías y síndrome de apnea del sueño, dado que estas enfermedades también pueden inducir HAP.

Estudios Clínicos

Se realizó estudios de laboratorio y ecocardiografía transtorácica (ETT) al momento de diagnóstico y 6 meses después.

La HAP se definió considerando una presión arterial pulmonar sistólica (PAPs) superior a 35 mmHg, similar a otros estudios reportados^(8, 9). Se consideró HAP leve a PAPs comprendida entre 35 a 39 mmHg, HAP moderada a PAPs entre 40 a 59 mmHg y HAP severa a PAPs mayor a 60 mmHg.

Después del diagnóstico, se procedió a realizar sangrías de 450 ml semanales hasta alcanzar concentraciones de Hb menores a 18 g/dl en los pacientes con eritrocitosis patológicas; posteriormente, previo consentimiento informado, los pacientes iniciaron tratamiento con atorvastatina (ATV) 20 mg VO día y ácido acetil salicílico (ASA) 100 mg VO día como parte de un tratamiento protocolizado.

El seguimiento de los pacientes se realizó mensualmente por consultorio externo, monitoreando la presión arterial sistémica (PA),

frecuencia cardíaca (FC), frecuencia respiratoria (FR), hemograma, índice de masa corporal (IMC) y eritropoyetina sérica (Epo).

El registro y análisis de datos se realizó a través del software Microsoft Office Excel, versión 16.23(190309).

INCIDENCIA Y SEVERIDAD

Valores normales de Epo, Hb y PAPs en sujetos control

Los sujetos control presentaron valores normales de eritropoyetina sérica (16,6 mUI/ml), hemoglobina (16,1 g/dl) y PAPs (28,1 mmHg). La fracción de eyección ventricular fue normal (68,2), ninguno de ellos presentó insuficiencia tricuspídea, dilatación de aurícula derecha ni dilatación del ventrículo derecho (Cuadro 1).

Variables divergentes entre controles normales y pacientes con eritrocitosis

Las variables estadísticamente diferentes entre los sujetos normales y los pacientes con eritrocitosis patológicas fueron los niveles de Hb (16,1 vs 21,1 g/dl), niveles de Epo sérica (16,6 vs 39,9 mUI/ml), rango de PAPs (28,1 vs 39,4 mmHg) y daños anatómicos del corazón (0,0 vs 81%) (Cuadro 2).

Diferencias en Epo, Hb y PAPs entre EPA y ES

Las concentraciones de Epo, Hb y rango de PAPs fueron diferentes entre pacientes con EPA y pacientes con ES. La diferencia radicó principalmente en la concentración de Epo sérica ($p=0.0001$), seguida de la Hb ($p=0.1$) y el rango de PAPs ($p=0.1$). En el grupo de pacientes con EPA, la concentración media de Epo sérica fue 14,9 mUI/ml, de Hb 20,8 g/dl y de PAPs 37,8 mmHg. Así mismo, en el grupo de pacientes con ES la concentración media de Epo fue 67,6 mmUI/ml, de Hb 21,2 g/dl y de PAPs 41,3 mmHg.

Se evidenció que el 70 % de pacientes con EPA y 72 % de pacientes con ES presentaron HAP, la presentación de grados de HAP leve y moderada fue similar en EPA y en ES, el único caso con HAP severa correspondió a un paciente con ES. La fracción de eyección en ambos grupos fue normal (Cuadros 1 y 2).

Cuadro 1. Características clínicas y laborales de los sujetos estudiados

	Controles Normales	Eritrocitosis (EPA/ES)*	EPA	ES
Número	6	38	20	18
Edad	49 ± 7	46±10	45 ± 10	48 ± 9
IMC		31.1±4.2	30.3 ± 4.1	32.1 ± 4.1
EPOC/evento trombótico	No	No	No	No
Hemoglobina g/dl	16.1 ± 0.7	21.1±1.4	20.8 ± 1.4	21.2 ± 1.4
Eritropoyetina	16.6 ± 6.1	39.9±33.1	14.9 ± 6.1	67.6 ± 28.1
Colesterol total	197 ± 14	195 ± 44	202 ± 36	185 ± 50
HDL colesterol	41 ± 6	39 ± 6	39 ± 5	38 ± 6
LDL colesterol	114 ± 12	120 ± 38	124 ± 33	115 ± 43
VLDL colesterol	41 ± 21	35 ± 14	39 ± 14	31 ± 12
Triglicéridos	168 ± 65	172 ± 70	190 ± 72	155 ± 63
Creatinina	1.2 ± 0.1	1.2 ± 0.1	1.2 ± 0.1	1.2 ± 0.1

*Representa la valoración de las eritrocitosis en conjunto. **EPA:** Eritrocitosis Patológica de Altura, **ES:** Eritrocitosis Secundaria.

Cuadro 2. Características ecocardiográficas al diagnóstico

	Normal	Eritrocitosis (EPA+ES)*	EPA	ES
Número	6	38	20	18
PAPs	28.1 ± 6.7	39.4 ± 9.6	37.8 ± 7.8	41.3 ± 11.2
PAPs normal <35mmHg	6 (100%)	11 (29%)	6 (30%)	5 (28%)
PAPs leve 35-40 mmHg	0	8 (21%)	5 (25%)	3 (17%)
PAPs moderada 40-60 mmHg	0	18 (47%)	9 (45%)	9 (50%)
PAPs severa >60 mmHg	0	1 (3%)	0	1 (5%)
Fracción de eyección	68.2 ± 6.4	66.7±7.1	66 ± 7	67 ± 7
Insuficiencia tricuspidéa (%)	0 (0%)	34 (89%)	18 (90%)	16 (89%)
AD dilatado (%)	0 (0%)	9 (24%)	4 (20%)	5 (28%)
VD dilatado (%)	0 (0%)	20 (53%)	7 (35%)	13 (72%)

*Representa la valoración de las eritrocitosis en conjunto. **EPA:** Eritrocitosis Patológica de Altura, **ES:** Eritrocitosis Secundaria.

Repercusión anatómica en pacientes con eritrocitosis

La insuficiencia tricuspídea fue una de las alteraciones anatómicas frecuentes tanto en pacientes con EPA (90 %) como en pacientes con ES (89 %). La dilatación de la aurícula derecha fue 20 % en EPA y 28 % en ES; mientras que la dilatación del ventrículo derecho fue 35 % en EPA y 72 % en ES (Cuadro 2).

Frecuencia de HAP en controles normales y pacientes con eritrocitosis

El rango de PAPs estuvo incrementado en las eritrocitosis, se evidenció 39,4 mmHg en pacientes con eritrocitosis patológicas y 28,1 mmHg en controles normales. Así, el grado de HAP moderada fue más frecuente, del total de 38 pacientes 27 (71 %) presentaron HAP; y de estos, 8 (30 %) presentaron HAP leve, 18 (67 %) HAP moderada y 1 (3 %) HAP severa (Cuadro 3).

Diferencias laboratoriales y grados de HAP

Los estudios laboratoriales referidos a eritropoyetina sérica, hemoglobina, creatinina, colesterol total y triglicéridos no reflejaron diferencias significativas entre los diferentes grados de severidad de HAP; sin embargo, en el estudio de colesterol LDL, los pacientes con HAP moderada presentaron niveles elevados en relación a pacientes con HAP leve y pacientes sin HAP (Cuadro 3).

Diferencias ecocardiográficas en pacientes con eritrocitosis

No se evidenció diferencias relevantes de daños anatómicos en los estudios ecocardiográficos, la fracción de eyección ventricular izquierda, la insuficiencia tricuspídea, la dilatación de la aurícula derecha y la dilatación del ventrículo derecho presentaron el mismo porcentaje de lesión cardíaca (Cuadro 3).

TRATAMIENTO

Se estableció un protocolo de tratamiento que consistió en realizar sangrías de 450 ml semanales hasta alcanzar concentraciones de Hb <18 g/dl y posteriormente, administrar atorvastatina (ATV) 20 mg VO día y ácido acetil salicílico (ASA) 100 mg VO día.

Niveles de Hb y Epo sérica posterior a tratamiento

Posterior a 6 meses de seguimiento, los pacientes que fueron tratados con sangrías, ATV y ASA presentaron normalización en los niveles de hemoglobina de 21,2 g/dl a 18 g/dl, los niveles de Epo sérica también disminuyeron significativamente de 43 mUI/ml a 37 mUI/ml, aunque sin alcanzar rangos normales (Cuadro 4).

Rango de PAPs posterior al tratamiento

Posterior al tratamiento, seguimiento de 6 meses, la PAPs disminuyó significativamente ($p=0.01$) de 37,7 mmHg a 33 mmHg (Cuadro 4).

Modificación de lesiones anatómicas cardíacas posterior al tratamiento

No se evidenció modificaciones en las lesiones anatómicas referidas a insuficiencia tricuspídea, dilatación de aurícula derecha y dilatación de ventrículo derecho (Cuadro 4).

CONCLUSIONES

La determinación planteada en este estudio sobre la incidencia y los predictores asociados a HAP en pacientes con eritrocitosis patológicas permite vislumbrar que, de acuerdo con los resultados y mediante evaluaciones ecocardiográficas no invasivas, la incidencia de HAP en estos pacientes es del 71 %; además que, existe una correlación entre la HAP y variables como concentración de Epo sérica y eritrocitosis.

Es importante mencionar que el presente estudio retiró pacientes con evidencia de EPOC aunque sin descartar totalmente la existencia mínima, esto considerando que en un estudio realizado por Brabrand se reportó presencia de HAP en 6 de 158 pacientes con enfermedades mieloproliferativas crónicas (3,8 %) donde la mitad tenían mielofibrosis; de los 6 pacientes con HAP, 4 tenían etiología cardíaca, 2 pulmonar y 1 tromboembolia pulmonar⁽⁷⁾.

Probablemente, la etiología de HAP en los pacientes con eritrocitosis, en relación con los controles normales, se deba a la Hb elevada (16,1 vs 21,1 g/dl) y Epo sérica incrementada (16,6 vs 39,9 mUI/ml). El incremento de Epo en plasma, además de los efectos pulmonares *in vitro*, sugiere que la Epo puede ser un factor importante en el desarrollo o la progresión de HAP y puede afectar la proliferación de células endoteliales y músculo liso⁽¹⁰⁾. Datos reportados parecen confirmar la importancia del rol de Epo en la HAP, de hecho, se ha observado un aumento significativo en los índices de resistencia pulmonar vascular inmediatamente después de la administración de Epo⁽¹¹⁾.

Investigaciones realizadas por otros grupos de estudio reportan sobre la presencia de hipertensión pulmonar en ratones transgénicos con eritrocitosis excesiva, a través de la medición *in vivo* de la presión de arteria pulmonar (PAP)⁽¹²⁾; asimismo,

Cuadro 3. Características clínicas, laboratoriales y ecocardiográficas de pacientes con eritrocitosis patológicas según grado de HAP

Grado de HAP	Normal	Leve	Moderada	severa
Número	11	8	18	1
PAPs mmH	<35	35-40	40-60	>60
Edad	50 ± 9	45 ± 9	45 ± 10	53
Dx EPA	6	5	9	0
Dx ES	5	3	9	1
IMC	31.9 ± 2.7	30.3 ± 3.5	31.3 ± 5.1	25.7
Hemoglobina g/dl	21.3 ± 1	19.6 ± 1.1	21.2 ± 1.2	24.2
Eritropoyetina	37.5 ± 28.2	38.0 ± 35.6	38.8 ± 34.3	291
Colesterol total	168 ± 35	179 ± 34	199 ± 53	232
HDL colesterol	36 ± 5	40 ± 7	38 ± 6	37
LDL colesterol	90 ± 34	107 ± 36	125 ± 42	153
VLDL colesterol	42 ± 17	32 ± 9	36 ± 15	42
Triglicéridos	209 ± 88	151 ± 42	178 ± 73	212
Creatinina	1.2 ± 0.1	1.2 ± 0.1	1.1 ± 0.1	1.2
PAPs mHg	27.9 ± 2.4	36.5 ± 1.8	46.6 ± 5.2	61
Fracción de eyección	68.5 ± 8.6	64.8 ± 5.8	66.6 ± 6.9	66
Insuficiencia tricuspea (%)	11 (100%)	6 (75%)	16 (89%)	1 (100%)
AD dilatado (%)	2 (18%)	2 (25%)	4 (23%)	1 (100%)
VD dilatado (%)	6 (55%)	3 (38%)	6 (34%)	1 (100%)

Cuadro 4. Comparación de pacientes con eritrocitosis patológicas según pre/post sangría y tratamiento con ATV y ASA

	Pre Tx	Post Tx	p
Número	18	18	-
Edad	48 ± 9	48 ± 9	-
Dx EPA	9	9	-
Dx ES	9	9	-
IMC	32.3	31.6	-
Hemoglobina g/dl	21.2 ± 1.5	18.0 ± 0.8	-
Eritropoyetina	43 ± 36	37 ± 30	0.1
Colesterol total	198 ± 47	183 ± 30	0.1
HDL colesterol	37 ± 4	37 ± 2	No
LDL colesterol	130 ± 41	115 ± 27	0.1
VLDL colesterol	30 ± 11	31 ± 8	0.4
Triglicéridos	153 ± 54	153 ± 43	no
Creatinina	1.2 ± 0.1	1.2 ± 0.1	-
PAPs mmHg	37.7 ± 9.1	33.0 ± 11.7	0.1
Fracción de eyección	67 ± 7	70 ± 7	0.1
Insuficiencia tricuspea (%)	18 (100%)	18 (100%)	-
AD dilatado (%)	4 (22%)	4 (22%)	-
VD dilatado (%)	14 (78%)	12 (67%)	-

que en pollos y ganado, la altura induce el aumento de HAP^(13, 14). De forma similar, se ha reportado aumento de HAP en pacientes con eritrocitosis patológicas de altura⁽¹⁵⁾.

Según los resultados observados en nuestro estudio, se considera que el desarrollo de HAP en este tipo de pacientes eritrocíticos está relacionado con el aumento de eritrocitos asociado a hiperviscosidad sanguínea y el incremento en la concentración de eritropoyetina sérica; probablemente, la eritropoyetina tenga un rol preponderante en el desarrollo de HAP dado que en la Policitemia Vera los pacientes no desarrollan HAP aun con presencia de hipervolemia⁽¹⁶⁾.

La eritrocitosis y la hipoxemia que ocurre en habitantes de altitud, nativos o residentes, a largo plazo puede complicarse con la manifestación de HAP como consecuencia del tipo de eritrocitosis y la presión barométrica baja⁽¹⁷⁾. La PAPs está más incrementada en pacientes con ES en relación con los de EPA y probablemente esto se deba a que la ES tiene un mayor número de eritrocitos (Hb incrementada) y mayor concentración de Epo sérica. Del mismo modo, las valoraciones por ecocardiografía señalan que las lesiones anatómicas del corazón referidas a insuficiencia tricuspídea, dilatación de aurícula derecha y dilatación de ventrículo derecho son mayores en pacientes con ES.

Al respecto del tratamiento de HAP, no existen datos precisos sobre la efectividad de terapias concretas. Se conoce que el pronóstico de la HAP asociado a enfermedades mieloproliferativas crónicas (EMPC) continúa siendo deficiente y solo se recomiendan ensayos de control aleatorio, por ejemplo, la endarterectomía pulmonar como tratamiento de elección en pacientes elegibles con hipertensión pulmonar tromboembólica crónica (HPTEC) proximal⁽¹⁸⁾.

Así, en el presente estudio, el tratamiento de HAP en pacientes con eritrocitosis, previa realización de sangrías hasta alcanzar niveles de Hb inferiores a 18 g/dl, consistió en administrar ATV 20 mg VO día y ASA 100 mg VO día. Correspondientemente, un seguimiento de este tratamiento (6 meses) permite evidenciar una normalización de los niveles de hemoglobina, una notable disminución de los niveles de Epo sérica y la consiguiente disminución de la PAPs aunque sin llegar a valores normales; asimismo, que las lesiones anatómicas no se revierten con el tratamiento.

Se conoce que el ASA es considerado relevante por su acción como antiagregante plaquetario⁽²⁾. Sin embargo, en referencia a la atorvastatina, varios reportes sobre estudios realizados en diversos modelos de ratas señalan que las estatinas inhiben la activación de RhoA previniendo la isoprenilación post-traducciona l de la proteína y que la correspondiente translocación a la membrana plasmática mejora la HAP, lo que podría ser eficaz en pacientes con HAP. Existen evidencias que sugieren que la señalización de RhoA/Rho quinasa (ROCK) juega un papel importante en la patogénesis de varios modelos experimentales de hipertensión pulmonar, incluyendo la hipoxia crónica. Esta señalización de ROCK ha sido incriminado en eventos fisiopatológicos que van desde la vasoconstricción anormal sostenida hasta la promoción de inflamación vascular y remodelación⁽¹⁹⁻²²⁾.

De esta manera, este estudio concluye que la Hipertensión Arterial Pulmonar en los pacientes con eritrocitosis en la altura tiene una incidencia del 71 %, el grado de severidad moderada es más frecuente, su desarrollo está probablemente relacionado con el aumento de eritrocitos, aumento de eritropoyetina y la presión barométrica baja; asimismo se plantea que, la flebotomía, ATV y ASA constituyen una opción de tratamiento.

Referencias

1. Amaru R, Quispe T, Torres G, Mamani J, Aguilar M, Míguez H, et al. Caracterización clínica de la eritrocitosis patológica de altura. *Revista de Hematología*. 2016;17(1):8-20.
2. Amaru Lucana R, Vera Carrasco O. Guía para el diagnóstico y tratamiento de las eritrocitosis patológicas en la altura. *Revista Médica La Paz*. 2016;22(2):70-7.
3. Adir Y, Humbert M. Pulmonary hypertension in patients with chronic myeloproliferative disorders. *European Respiratory Journal*. 2010;35(6):1396-406.
4. Barberà JA, Román A, Gómez-Sánchez MÁ, Blanco I, Otero R, López-Reyes R, et al. Guía de diagnóstico y tratamiento de la hipertensión pulmonar: resumen de recomendaciones. *Archivos de Bronconeumología*. 2018;54(4):205-15.
5. Ordoñez-Vázquez AL, Montes-Castillo C, Mora-Soto JR, Sánchez-Hernández JD. Hipertensión arterial pulmonar. *El Residente*. 2015;10(1):18-30.
6. García JC, Guillén RV, Argente GR. Hipertensión arterial pulmonar: fisiopatología, diagnóstico, tratamiento y consideraciones anestésicas. *Rev Esp Anestesiología y Reanimación*. 2007;54(2):93-108.
7. Brabrand M, Hansen KN, Laursen CB, Larsen TS, Vestergaard H, Abildgaard N. Frequency and etiology of pulmonary hypertension in patients with myeloproliferative neoplasms. *European journal of haematology*. 2019;102(3):227-34.
8. Gologanu D, Stanescu C, Ursica T, Balea Mi, Ionita D, Bogdan Ma. Prevalence and characteristics of pulmonary hypertension associated with COPD-A pilot study in patients referred to a pulmonary rehabilitation program clinic. *Maedica*. 2013;8(3):243.
9. Sertogullarindan B, Gumrukcuoglu HA, Sezgi C, Akil MA. Frequency of pulmonary hypertension in patients with COPD due to biomass smoke and tobacco smoke. *International journal of medical sciences*. 2012;9(6):406.
10. Karamanian VA, Harhay M, Grant GR, Palevsky HI, Grizzle WE, Zamanian RT, et al. Erythropoietin upregulation in pulmonary arterial hypertension. *Pulmonary circulation*. 2014;4(2):269-79.
11. Buemi M, Senatore M, Gallo G, Crasci E, Campo S, Sturiale A, et al. Pulmonary hypertension and erythropoietin. *Kidney and Blood Pressure Research*. 2007;30(4):248-52.
12. Hasegawa J, Wagner KF, Karp Dr, Li D, Shibata J, Heringlake M, et al. Altered pulmonary vascular reactivity in mice with excessive erythrocytosis. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2004;169(7):829-35.
13. Cueva S, Sillau H, Valenzuela A, Ploog H. High altitude induced pulmonary hypertension and right heart failure in broiler chickens. *Research in veterinary science*. 1974;16(3):370-4.
14. Will DH, Alexander AF, Reeves JT, Grover RF. High altitude-induced pulmonary hypertension in normal cattle. *Circulation research*. 1962;10(2):172-7.
15. Peñaloza D, Sime F, Banchero N, Gamboa R, Cruz J, Marticorena E. Pulmonary hypertension in healthy men born and living at high altitudes. *American Journal of Cardiology*. 1963;11(2):150-7.
16. Nand S, Orfei E. Pulmonary hypertension in polycythemia vera. *American journal of hematology*. 1994;47(3):242-4.
17. Naeije R, Vanderpool R. Pulmonary hypertension and chronic mountain sickness. *High altitude medicine & biology*. 2013;14(2):117-25.
18. Adir Y, Elia D, Harari S. Pulmonary hypertension in patients with chronic myeloproliferative disorders. *European Respiratory Review*. 2015;24(137):400-10.
19. Girgis RE, Mozammel S, Champion HC, Li D, Peng X, Shimoda L, et al. Regression of chronic hypoxic pulmonary hypertension by simvastatin. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2007;292(5):L1105-10.
20. Oka M, Fagan K, Jones P, McMurtry I. Therapeutic potential of RhoA/Rho kinase inhibitors in pulmonary hypertension. *British journal of pharmacology*. 2008;155(4):444-54.
21. Wilkins MR, Ali O, Bradlow W, Wharton J, Taegtmeyer A, Rhodes CJ, et al. Simvastatin as a treatment for pulmonary hypertension trial. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2010;181(10):1106-13.
22. Fukumoto Y, Yamada N, Matsubara H, Mizoguchi M, Uchino K, Yao A, et al. Double-blind, placebo-controlled clinical trial with a rho-kinase inhibitor in pulmonary arterial hypertension. *Circulation Journal*. 2013;77(10):2619-25.

ERITROCITOSIS MICROCÍTICA POST FLEBOTOMÍA: UNA NUEVA ENTIDAD CLÍNICA

Amaru Ricardo, Carrasco Mireya, Velarde Jeaneth, Mamani Reyna, Patón Daniela, Amaru Ariel.

Unidad de Biología Celular, Facultad de Medicina, UMSA, La Paz, Bolivia.

Instituto Boliviano de Oncohematología 'Paolo Belli', La Paz, Bolivia.

INTRODUCCIÓN

Las eritrocitosis patológicas en la altura (Eritrocitosis Patológica de Altura: EPA, Eritrocitosis Secundaria: ES, Policitemia Vera: PV) tienen como tratamiento de inicio a las flebotomías, cuyo objetivo concierne la remisión de los síntomas de hiperviscosidad sanguínea (cefalea, disnea, parestesias y tinnitus) que suelen afectar las actividades cotidianas del paciente derivándose en los principales motivos de consulta médica ⁽¹⁻⁴⁾. Sin embargo, la frecuencia prolongada de dichas flebotomías puede alterar la distribución de hierro en el organismo donde la concentración total oscila entre 3000 a 5000 mg y de los cuales 2000 mg se encuentran en el tejido hematopoyético ^(5, 6) constituyéndose un elemento esencial para la síntesis de la hemoglobina.

Generalmente, se realizan 3 sesiones de flebotomía terapéutica de 450 ml en cada paciente, esto con una frecuencia semanal hasta alcanzar valores de hemoglobina (Hb) inferiores a 18 g/dl ⁽⁷⁻¹⁰⁾ pudiendo considerar una o dos sesiones adicionales. Así también, en la práctica médica se observa varios pacientes con eritrocitosis patológicas que suelen presentar historia de flebotomías anteriores, muchas veces superiores a 6 sesiones. Estas sangrías frecuentes hacen que el hierro del organismo disminuya sustancialmente, manifestándose una disminución de la ferritina sérica y del VCM de los eritrocitos que dan lugar a una alteración en la membrana celular eritrocitaria ⁽¹¹⁻¹⁴⁾.

Durante el procedimiento de la flebotomía, se pierde alrededor de 1 mg de hierro por cada 2 ml de sangre retirada, así en cada flebotomía de 450 ml se

pierde 225 mg de hierro aproximadamente ⁽¹⁵⁻¹⁷⁾. Los pacientes con eritrocitosis generalmente realizan 3 sesiones de flebotomía de 450 ml, por lo que llegan a perder cerca de 675 mg de hierro ⁽⁸⁾. Sin embargo, cuando el número de sesiones es mayor, la cantidad perdida de hierro sobrepasa los valores estimados, esto considerando además que la absorción natural de hierro por vía intestinal es de 1 mg día; de esta forma, las flebotomías están relacionadas con la deficiencia de hierro implicando una descompensación en el equilibrio entre la absorción y pérdida de hierro ^(5, 6, 18, 19).

En condiciones de deficiencia de hierro, la eritropoyesis incrementada en los pacientes con eritrocitosis produce una microcitosis y una membrana eritrocitaria alterada disminuyendo por consiguiente el transporte del oxígeno y la movilidad de los eritrocitos ^(20, 21). En una etapa inicial de esta deficiencia, la concentración de ferritina sérica suele ser el indicador más fidedigno de la reserva de hierro, pero en un estadio avanzado se debe considerar el VCM de los eritrocitos ⁽²²⁾. Al respecto de la ferritina, esta al encontrarse regulada por procesos inflamatorios y medicamentos no constituye un marcador ideal ya que la mayoría de los pacientes con eritrocitosis tienen procesos inflamatorios crónicos, por lo que estos pacientes no presentan una correlación adecuada entre los niveles de ferritina sérica y las reservas de hierro ⁽²³⁻²⁷⁾.

La anemia, microcitosis y disminución de la ferritina sérica son los indicadores mejor reconocidos de una deficiencia de hierro ^(28, 29), pero en los pacientes eritrocíticos la valoración de esta deficiencia está relacionada no solo con

la disminución de los niveles de la ferritina sérica sino también con la disminución del VCM de los eritrocitos (30, 31).

La deficiencia de hierro suele ser frecuente en los donantes de sangre habituales y los pacientes con policitemia vera de reiteradas flebotomías (32-37); este último grupo de pacientes está relacionado con una disminución del VCM inferior a 70 fl por ferropenia (38-40), donde también se ha evidenciado que una suplementación de hierro oral mejora el VCM y disminuye la hiperviscosidad sanguínea (39, 41, 42).

Es así que, este capítulo pretende describir la presencia de eritrocitosis microcítica por ferropenia posterior a flebotomías frecuentes en pacientes con eritrocitosis patológicas en la altura, como una nueva entidad clínica presente en este grupo de pacientes.

PROCEDIMIENTOS

Material y métodos

Se realizó un estudio analítico longitudinal de tipo prospectivo entre enero de 2015 y abril de 2020 que incluyó 84 pacientes con eritrocitosis patológicas, 57 varones (EPA=12, ES = 45) y 27 mujeres (EPA=5, ES=22), todos con radicaria en las ciudades de La Paz y El Alto a 3600 y 4000 metros sobre el nivel del mar, respectivamente. La edad media de los pacientes fue de 57 años en los varones y 60 años en las mujeres.

Los pacientes presentaron signos de deficiencia de hierro y persistencia de hiperviscosidad sanguínea durante el tratamiento con flebotomías. A los dos meses de iniciado el procedimiento de flebotomías terapéuticas, en bolsas de transfusión

de 450 ml para alcanzar valores normales de Hb <18 g/dl en varones y <17 g/dl en mujeres, se realizó estudios clínicos y laboratoriales para determinar la deficiencia de hierro por ferropenia y diagnóstico de eritrocitosis microcítica considerando valores de VCM inferiores a 75 fl (43-45).

Estudios clínicos y laboratoriales

Se consideró presencia de dos o más síntomas como cefalea, disnea, parestesias y tinnitus para valorar la presencia de síntomas de hiperviscosidad sanguínea. Asimismo, para el estudio laboratorial, se obtuvo muestras de sangre venosa periférica depositadas en tubos Vacutainer con EDTA (Becton Dickinson, Francia) que fueron procesadas en un contador hematológico automático (ABX Micros ES60 Horiba, USA). Se realizó la dosificación de la ferritina sérica por método de ELISA en menos del 20 % de pacientes. Las características clínicas y laboratoriales de los pacientes estudiados se detallan en el Cuadro 1.

Tratamiento y seguimiento

Posteriormente, para el tratamiento de la deficiencia de hierro, 72 pacientes (48 varones, 24 mujeres) recibieron hierro sacarato 500 mg IV vía endovenosa distribuidos en 100 mg cada sesión por 5 días, otros 12 pacientes (10 varones y 2 mujeres) recibieron hierro 100 mg por vía oral día (hierro polimaltosa) por un mes. La evaluación de la respuesta al tratamiento con hierro fue realizada a los 2 meses de iniciada la administración del mismo.

Los signos vitales fueron tomados antes y después de las flebotomías.

Cuadro 1. Características clínicas y laboratoriales de los pacientes

Sujetos	Número	Edad, años (DS)	Hb g/dL	Hto %	VCM fl	Hiperv N° / %	Flebotomía (sesiones)
Varones	57	57 (±11)	20.4 (±2.6)	65.7 (±8.3)	80.3 (±11)	57 100%	7 (±6)
Mujeres	27	60 (±9)	19.4 (±2.1)	61.7 (±6.5)	81.7 (±11)	27 100%	5 (±3)

Los datos reflejan la media aritmética y la desviación estándar DS (±). **Hb**: hemoglobina, **Hto**: hematocrito, **VCM**: Volumen Corpuscular Medio, **Hiperv**: síntomas de hiperviscosidad sanguínea.

ERITROCITOSIS MICROCÍTICA POST-FLEBOTOMÍA

Flebotomías y deficiencia de hierro

Los pacientes con eritrocitosis patológicas sometidos a flebotomías para alcanzar valores normales de Hb <18 g/dl en varones (número de sangrías 4±2) y <17 g/dl en mujeres (número de sangrías 3±2) fueron evaluados para diagnóstico de deficiencia de hierro a los dos meses posteriores a la primera flebotomía. Se observó un incremento en el número de eritrocitos, los niveles de hemoglobina y hematocrito fueron los estimados, sin embargo, el VCM (70±5 fl) presentó una disminución en relación a los valores normales (Cuadros 2 y 3).

Cuadro 2. Características hematológicas pre y post flebotomía de pacientes varones

	Pre Flebotomía (n=57)	Post Flebotomía (n=57)	p
Hb g/dL	20.4 (±2.6)	17.6 (±1.4)	0.00
Hto %	65.7 (±8.3)	57.3 (±6.1)	0.00
VCM fl	80.3 (±11)	72.2 (±5.2)	0.00

Los datos reflejan la media aritmética y la desviación estándar (±). **n**: número de pacientes.

TRATAMIENTO

Tratamiento con hierro vía endovenosa

Los pacientes (48 varones y 24 mujeres) que fueron tratados con hierro por vía endovenosa (sacarato de hierro), 100 mg día por 5 días, reflejaron incremento del VCM sin llegar a valores normales. La hemoglobina y el hematocrito permanecieron estables sin llegar a valores iniciales preflebotomía y los síntomas de hiperviscosidad sanguínea remitieron en un 56 % en los varones y 62 % en las mujeres (Cuadros 4 y 5).

Tratamiento con hierro vía oral

En los 10 pacientes tratados con hierro por vía oral día (hierro polimaltosa 100 mg) durante

Cuadro 3. Características hematológicas pre y post flebotomía de pacientes mujeres

	Pre Flebotomía (n=27)	Post Flebotomía (n=27)	p
Hb g/dL	19.4 (±2.1)	17.1 (±1.8)	0.00
Hto %	61.7 (±6.5)	54.8 (±5.3)	0.00
VCM fl	81.7 (±11)	71.8 (±4.9)	0.00

Los datos están expresados en media aritmética y desviación estándar (±). **n**: número de pacientes.

Cuadro 4. Características de pacientes varones post tratamiento con hierro vía endovenosa

	Pre Flebotomía (n=48)	Pre Tratamiento (n=48)	Post Tratamiento (n=48)	p
Hb g/dL	20.3 (±2.3)	17.7 (±2.1)	19.1 (±1.8)	0.00
Hto %	65.6 (±7.4)	57.7 (±6.4)	61.4 (±8.2)	0.01
VCM fl	80.6 (±8.9)	73.3 (±0.5)	78.0 (±6.3)	0.00
Hiperviscosidad Nº / %	48 100%	47 98%	21 44%	--

Los datos están expresados en media aritmética y desviación estándar (±). **n**: número de pacientes.

Cuadro 5. Características de pacientes mujeres post tratamiento con hierro vía endovenosa

	Pre Flebotomía (n=24)	Pre Tratamiento (n=24)	Post Tratamiento (n=24)	p
Hb g/dL	19.6 (±2.1)	17.0 (±1.8)	17.9 (±2.3)	0.03
Hto %	62.5 (±6.4)	54.6 (±5.4)	57.5 (±7.9)	0.02
VCM fl	83.4 (±10.9)	72.2 (±5.0)	77.1 (±5.9)	0.00
Hiperviscosidad Nº / %	24 100%	24 100%	9 38%	--

Los datos están expresados en media aritmética y desviación estándar ($\pm$). n: número de pacientes.

Cuadro 6. Características de pacientes varones post tratamiento con hierro vía oral

	Pre Flebotomía (n=10)	Pre Tratamiento (n=10)	Post Tratamiento (n=10)	p
Hb g/dL	20.6 (±3.9)	17.4 (±0.9)	19.4 (±1.8)	0.01
Hto %	61.9 (±8.7)	55.7 (±3.0)	62.9 (±8.2)	0.00
VCM fl	78.6 (±3.3)	67.3 (±4.4)	77.2 (±4.0)	0.00
Hiperviscosidad Nº / %	10 100%	10 100%	8 80%	

Los datos están expresados en media aritmética y desviación estándar ($\pm$). n: número de pacientes.

un mes, la hemoglobina y el hematocrito incrementaron, pero sin alcanzar valores iniciales preflebotomía, el VCM mejoró notablemente y los síntomas de hiperviscosidad disminuyeron en un 20 % (Cuadro 6).

El cuadro correspondiente a las pacientes mujeres (n=2) que recibieron hierro por vía oral no fue realizado por no ser representativo estadísticamente; sin embargo, los resultados fueron similares al de los pacientes varones.

CONCLUSIONES

Los pacientes con eritrocitosis patológicas en la altura sometidos a flebotomías terapéuticas para alcanzar valores normales de hemoglobina pueden presentar deficiencia de hierro ⁽³⁰⁾, así lo refleja el control realizado a los dos meses desde la primera flebotomía. Esta deficiencia, similar a la observada

en donadores de sangre habituales ^(46, 47), depende del número de donaciones o flebotomías, de la frecuencia de las mismas y la cantidad de reserva de hierro en el organismo.

Este cuadro se manifiesta con la disminución de VCM por debajo de 75 fl. Asimismo, los valores de hemoglobina y hematocrito se encuentran dentro de parámetros normales, pero la sintomatología de la hiperviscosidad sanguínea está exacerbada, lo cual posiblemente se deba a que los eritrocitos microcíticos producen mayor viscosidad sanguínea, deformabilidad de los eritrocitos y fragilidad aumentada de la membrana eritrocitaria ^(48, 49).

Subsecuentemente, se puede evidenciar que el tratamiento con hierro por vía oral (hierro polimaltosa) provee una mejoría paulatina en la remisión de síntomas de hiperviscosidad e

incremento del VCM; sin embargo, el tratamiento con hierro endovenoso (sacarato de hierro) conlleva una mejoría en menor tiempo expresada tanto en la clínica como en el VCM de los eritrocitos.

De esta manera, se describe una nueva entidad clínica denominada Eritrocitosis Microcítica Post Flebotomía (EMPF), secundaria a pérdida

de hierro por frecuentes flebotomías, que puede tratarse adecuadamente con suplemento de hierro. Así también, preventivamente se debe tener en cuenta la reserva de hierro en los pacientes a ser sometidos a flebotomías, además de la administración endovenosa de hierro posterior a cada flebotomía ⁽³⁹⁾ (Cuadro 7).

Cuadro 7. Resumen de la entidad clínica: Eritrocitosis microcítica post-flebotomía

Definición	Disminución de la reserva de hierro corporal post flebotomías en condiciones de eritropoyesis incrementada por eritrocitosis patológica.
Etiología	Deficiencia de hierro posterior a flebotomías.
Epidemiología	Se presenta en pacientes con historia de flebotomías frecuentes. Se presenta en pacientes eritrocíticos con bajas reservas de hierro.
Diagnóstico clínicos	Síntomas de hiperviscosidad sanguínea exacerbados
Diagnóstico laboratorial	Número de eritrocitos incrementados VCM disminuido (< 75 fl) Hb y Ht normal o ligeramente incrementados
Tratamiento	Hierro parenteral 100 mg IV, 5 sesiones. Hierro por vía oral 100 mg VO por 30 días.
Profilaxis	Antes de las flebotomías, dosificar ferritina sérica y valorar VCM para identificar pacientes con bajas reservas de hierro. Administrar hierro parenteral 100 mg IV posterior a cada flebotomía.

Referencias

1. Amaru R, Quispe T, Torres G, Mamani J, Aguilar M, Miguez H, et al. Caracterización clínica de la eritrocitosis patológica de altura. *Revista de Hematología*. 2016;17(1):8-20.
2. Amaru R, Amaru A, Miguez H, Torres G, Mamani J, Aguilar M, et al. Successful Treatment of HU-Refractory Polycythemia Vera with Atorvastatin and Low Dose Hydroxyurea. Results from a Pilot Study in Bolivia. *American Society of Hematology Washington, DC*; 2015.
3. Amaru R, Amaru A, Miguez H, Gina T, Mamani J, Vera O, et al. Bolivian aymara natives with chronic mountain sickness have autonomous bfu-e growth. *Blood*. 2015;126:5206.
4. Prchal JT. Polycythemia vera and other primary polycythemia. *Current opinion in hematology*. 2005;12(2):112-6.
5. Kumar S, Anukiruthika T, Dutta S, Kashyap A, Moses JA, Anandharamakrishnan C. Iron deficiency anemia: A comprehensive review on iron absorption, bioavailability and emerging food fortification approaches. *Trends in Food Science & Technology*. 2020.
6. Hentze MW, Muckenthaler MU, Andrews NC. Balancing acts: molecular control of mammalian iron metabolism. *cell*. 2004;117(3):285-97.
7. Ricardo A, Miguez H, Peñaloza R, Torres G, Vera O, Velarde J, et al. Eritrocitosis patológica de altura: Caracterización biológica, diagnóstico y tratamiento. *Revista Médica La Paz*. 2013;19(2):5-18.
8. Amaru Lucana R, Vera Carrasco O. Guía para el diagnóstico y tratamiento de las eritrocitosis patológicas en la altura. *Revista Médica La Paz*. 2016;22(2):70-7.
9. Van Buren N, Hove A, French T, Gorlin J. Therapeutic Phlebotomy for Testosterone-Induced Polycythemia. *American Journal of Clinical Pathology*. 2020.
10. Barbui T, Finazzi G, editors. *Therapy for polycythemia vera and essential thrombocythemia is driven by the cardiovascular risk*. *Seminars in thrombosis and hemostasis*; 2007: Copyright© 2007 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New York.
11. Nersesjan V, Zervides KA, Sørensen AL, Kjær L, Skov V, Hasselbalch HC. The red blood cell count and the erythrocyte sedimentation rate in the diagnosis of polycythemia vera. *European journal of haematology*. 2020;104(1):46-54.

12. Bialkowski W, Kiss JE, Wright DJ, Cable R, Birch R, D'Andrea P, et al. Estimates of total body iron indicate 19 mg and 38 mg oral iron are equivalent for the mitigation of iron deficiency in individuals experiencing repeated phlebotomy. *American journal of hematology*. 2017;92(9):851-7.
13. Cable RG, Glynn SA, Kiss JE, Mast AE, Steele WR, Murphy EL, et al. Iron deficiency in blood donors: analysis of enrollment data from the REDS-II Donor Iron Status Evaluation (RISE) study. *Transfusion*. 2011;51(3):511-22.
14. Bessman JD. Microcytic polycythemia. Frequency of nonthalassemic causes. *Jama*. 1977;238(22):2391-2.
15. Cançado RD, Langhi Junior D. Blood donation, blood supply, iron deficiency and anemia: it is time to shift attention back to donor health. *Revista brasileira de hematologia e hemoterapia*. 2012;34(5):330-1.
16. Cançado RD, Chiattoni CS, Alonso FF, Langhi Júnior DM, Alves RdCS. Iron deficiency in blood donors. *Sao Paulo Medical Journal*. 2001;119(4):132-4.
17. O'Meara A, Infanti L, Stebler C, Ruesch M, Sigle JP, Stern M, et al. The value of routine ferritin measurement in blood donors. *Transfusion*. 2011;51(10):2183-8.
18. Aygun B, Mortier NA, Kesler K, Lockhart A, Schultz WH, Cohen AR, et al. Therapeutic phlebotomy is safe in children with sickle cell anaemia and can be effective treatment for transfusional iron overload. *British journal of haematology*. 2015;169(2):262-6.
19. Assi TB, Baz E. Current applications of therapeutic phlebotomy. *Blood Transfusion*. 2014;12(Suppl 1):s75.
20. Archer NM, Brugnara C. Diagnosis of iron-deficient states. *Critical reviews in clinical laboratory sciences*. 2015;52(5):256-72.
21. Herlax V, Vazquez R, Mate S, Bakás L. Eriptosis, la muerte suicida de eritrocitos: mecanismo y enfermedades asociadas. *Acta bioquímica clínica latinoamericana*. 2011;45(2):287-96.
22. Brugnara C. Iron deficiency and erythropoiesis: new diagnostic approaches. *Clinical chemistry*. 2003;49(10):1573-8.
23. Birgegård G, Högman C, Killander A, Levander H, Simonsson B, Wide L. Serum ferritin and erythrocyte 2, 3-DPG during quantitated phlebotomy and iron treatment. *Scandinavian journal of haematology*. 1977;19(4):327-33.
24. Jacobs A, Miller F, Worwood M, Beamish M, Wardrop C. Ferritin in the serum of normal subjects and patients with iron deficiency and iron overload. *Br med J*. 1972;4(5834):206-8.
25. Jacob RA, Sandstead HH, Klevay LM, Johnson L. Utility of serum ferritin as a measure of iron deficiency in normal males undergoing repetitive phlebotomy. 1980.
26. Ryu MS, Duck KA, Philpott CC. Ferritin iron regulators, PCBP1 and NCOA4, respond to cellular iron status in developing red cells. *Blood Cells Mol Dis*. 2018;69:75-81.
27. Ross AC. Impact of chronic and acute inflammation on extra- and intracellular iron homeostasis. *Am J Clin Nutr*. 2017;106(Suppl 6):1581s-7s.
28. de Villambrosia SG, Núñez J, Mesones BG, Insunza A. Trastornos del metabolismo del hierro y anemia ferropénica. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*. 2012;11(20):1202-11.
29. Harthoorn-Lasthuizen EJ, Lindemans J, Langenhuijsen MM. Combined use of erythrocyte zinc protoporphyrin and mean corpuscular volume in differentiation of thalassemia from iron deficiency anemia. *Eur J Haematol*. 1998;60(4):245-51.
30. Ginzburg YZ, Feola M, Zimran E, Varkonyi J, Ganz T, Hoffman R. Dysregulated iron metabolism in polycythemia vera: etiology and consequences. *Leukemia*. 2018;32(10):2105-16.
31. Abdelazim IA, Nusair B, Svetlana S, Zhurabekova G. Treatment of iron deficiency and iron deficiency anemia with intravenous ferric carboxymaltose in pregnancy. *Arch Gynecol Obstet*. 2018;298(6):1231-2.
32. Van de Pette J, Guthrie D, Pearson T. Whole blood viscosity in polycythaemia: the effect of iron deficiency at a range of haemoglobin and packed cell volumes. *British journal of haematology*. 1986;63(2):369-75.
33. Barton JC, Bottomley SS. Iron deficiency due to excessive therapeutic phlebotomy in hemochromatosis. *American journal of hematology*. 2000;65(3):223-6.
34. Rigas A, Pedersen O, Magnussen K, Erikstrup C, Ullum H. Iron deficiency among blood donors: experience from the Danish Blood Donor Study and from the Copenhagen ferritin monitoring scheme. *Transfusion Medicine*. 2019;29:23-7.
35. Romero M, Puente F, Abós M, Gutiérrez M. Incidencia de ferropenia en un colectivo de 922 candidatos altruistas a donantes de sangre. *Sangre*. 1989;34:126-9.

36. Mantilla-Gutiérrez CY, Cardona-Arias JA. Meta-análisis: prevalencia de deficiencia de hierro en donantes de sangre repetitivos y asociación con sexo, 2001-2011. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia*. 2013;29(1):59-72.
37. Karakulak Ea, Aksu S, Demiroğlu H, Sayinalp N, Göker H, Haznedaroğlu İc, et al. Unclassifiable non-CML classical myeloproliferative diseases with microcytosis: findings indicating diagnosis of polycythemia vera masked by iron deficiency. *Turkish journal of medical sciences*. 2019;49(5):1560-3.
38. Bessman JD. Microcytic polycythemia: frequency of nonthalassemic causes. *JAMA*. 1977;238(22):2391-2.
39. Sondel P, Tripp M, Ganick D, Levy J, Shahidi N. Phlebotomy with iron therapy to correct the microcytic polycythemia of chronic hypoxia. *Pediatrics*. 1981;67(5):667-70.
40. Patton W, Cave R, Harris R. A study of changes in red cell volume and haemoglobin concentration during phlebotomy induced iron deficiency and iron repletion using the Technicon H1. *Clinical & Laboratory Haematology*. 1991;13(2):153-61.
41. Rector Wg, Fortuin Nj, Conley Cl. Non-hematologic effects of chronic iron deficiency: a study of patients with polycythemia vera treated solely with venesections. *Medicine*. 1982;61(6):382-9.
42. Sondel PM, Tripp ME, Ganick DJ, Levy JM, Shahidi NT. Phlebotomy with iron therapy to correct the microcytic polycythemia of chronic hypoxia. *Pediatrics*. 1981;67(5):667-70.
43. de Villambrosia SG, Mesones BG, Núñez J, Insunza A. Protocolo diagnóstico de las anemias microcíticas. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*. 2012;11(20):1242-5.
44. Rojas IM, Oreiro MB, de la Guía AL, Navarro FH. Protocolo diagnóstico de las anemias microcíticas. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*. 2008;10(20):1363-5.
45. Joshi SD, Chikkagowdra S, Kumar V. Comparative study of efficacy and safety of intravenous ferric carboxy maltose versus iron sucrose in treatment of postpartum iron deficiency anemia. *International Journal of Reproduction, Contraception, Obstetrics and Gynecology*. 2016;5(8):2566-70.
46. Singh A, Chaudhary R, Pandey HC, Sonker A. Identification of iron status of blood donors by using low hemoglobin density and microcytic anemia factor. *Asian J Transfus Sci*. 2018;12(1):46-50.
47. Bodemann HH, Rieger A, Bross KJ, Schröter-Urban H, Löhr GW. Erythrocyte and plasma ferritin in normal subjects, blood donors and iron deficiency anemia patients. *Blut*. 1984;48(3):131-7.
48. Anderson C, Aronson I, Jacobs P. Erythropoiesis: Erythrocyte Deformability is Reduced and Fragility increased by Iron Deficiency. *Hematology*. 2000;4(5):457-60.
49. Al-Hashimi LM, Gambling L, McArdle HJ. The Effect of Iron Deficiency on Osmotic Sensitivity of Red Blood Cells from Neonatal Rats and Their Mothers. *J Membr Biol*. 2015;248(6):1199-206.

TRATAMIENTO IN VITRO DE LAS ERITROCITOSIS PATOLÓGICAS EN LA ALTURA

Amaru Ricardo, Quispe Teddy, Miguez Hortencia, Mancilla Silvia, Patón Daniela, Amaru Ariel.

Unidad de Biología Celular, Facultad de Medicina, UMSA, La Paz, Bolivia.

INTRODUCCIÓN

La eritrocitosis es la manifestación hematológica de la Enfermedad Crónica de Montaña, desencadenada por una adaptación inadecuada a grandes alturas en los genes reguladores de la eritropoyesis. Considerando las alteraciones que puedan ocasionarse en la regulación de la eritropoyesis, ciertos tipos de eritrocitosis pueden presentarse.

Por una parte, se encuentran la Eritrocitosis Secundaria (ES), comúnmente subyacente a enfermedades respiratorias, y la Policitemia Vera (PV) una neoplasia mieloproliferativa caracterizada por la mutación del gen $JAK2^{V617F}$ no precisamente relacionada con la altura. Asimismo, la Eritrocitosis Patológica de Altura (EPA) es un tipo de eritrocitosis propio de poblaciones andinas ubicadas en alturas mayores a 2500 m (ciudades de La Paz a 3650 y El Alto a 4150 m s. n. m.), está caracterizada por una eritropoyesis alterada (apoptosis retardada e hipersensibilidad a la eritropoyetina) ⁽¹⁻³⁾.

Por otra parte, las estatinas son un grupo de fármacos inhibidores de la HMG CoA reductasa (3-hidroxi-3-metilglutaril-Coenzima A reductasa) que inhibe la síntesis del colesterol ⁽⁴⁻⁶⁾. Debido a su efecto pleiotrópico han sido extensamente investigadas en varios ensayos clínicos tales como trastornos cardiovasculares ⁽⁷⁻⁹⁾, enfermedades neoplásicas ⁽¹⁰⁻¹²⁾, alteraciones en la hemostasia ⁽¹³⁻¹⁵⁾ y procesos de angiogénesis ⁽¹⁶⁻¹⁸⁾; por lo que se considera que, sus beneficios podrían ser más amplios de lo que se suponía en un principio. También se ha reportado que las estatinas poseen un mecanismo de inhibición de la proliferación y

diferenciación celular donde están involucrados los productos derivados de la vía del mevalonato como el farnesil y el geranilgeranil ⁽¹⁹⁻²¹⁾.

En conjunción con lo señalado previamente, el presente capítulo describe la acción inhibitoria *in vitro* de las estatinas sobre la eritropoyesis en pacientes con eritrocitosis patológicas.

PROCEDIMIENTOS

Material y métodos

Se estudió la acción farmacológica de las estatinas en líneas celulares y células progenitoras hematopoyéticas. Las líneas celulares estudiadas fueron UKE1 con el gen $JAK2^{V617F}$ mutado ⁽²²⁻²⁴⁾ y K562 con el gen $JAK2$ normal ⁽²⁵⁻²⁷⁾. Las Células Progenitoras Hematopoyéticas (CPH) fueron obtenidas de la médula ósea de los siguientes grupos de pacientes:

- Controles Normales (CN)
- Pacientes con EPA
- Pacientes con EPA en tratamiento con atorvastatina, 20 mg día
- Pacientes con ES
- Pacientes con PV

Todos de sexo masculino con una edad promedio de 48 años, y con radicatura en las ciudades de La Paz y El Alto a 3650 y 4000 m s. n. m. respectivamente.

Los pacientes con EPA en tratamiento recibieron 20 mg de atorvastatina por más de 6 meses, la prescripción médica fue hipercolesterolemia.

Estudios laboratoriales

Se llevaron a cabo pruebas de proliferación celular, cultivo de colonias y ensayos de apoptosis

celular. Para ello, las células mononucleares de médula ósea de todos los pacientes fueron aisladas por gradiente de concentración con una viabilidad

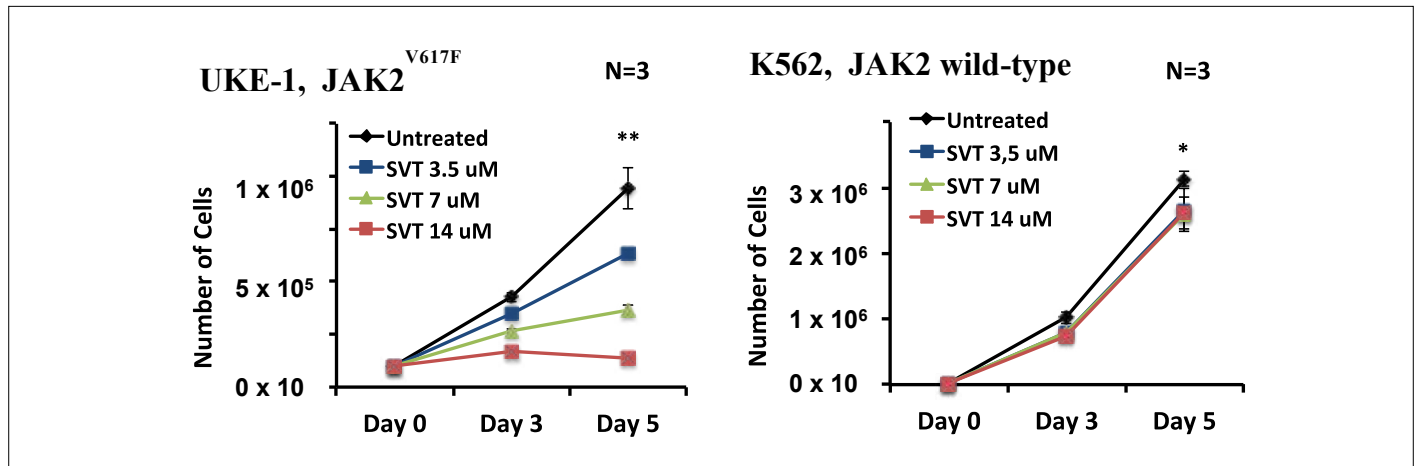


Figura 1. Inhibición de la proliferación celular en UKE-1 y K562. *STV: Simvastatina (estatina), N: número de experimentos. UKE-1, línea celular homocigota con mutación del gen JAK-2, obtenida de un paciente con trombocitemia esencial. K562, línea celular immortalizada a partir de leucemia mieloide crónica (BCR/ABL) en fase blástica.*

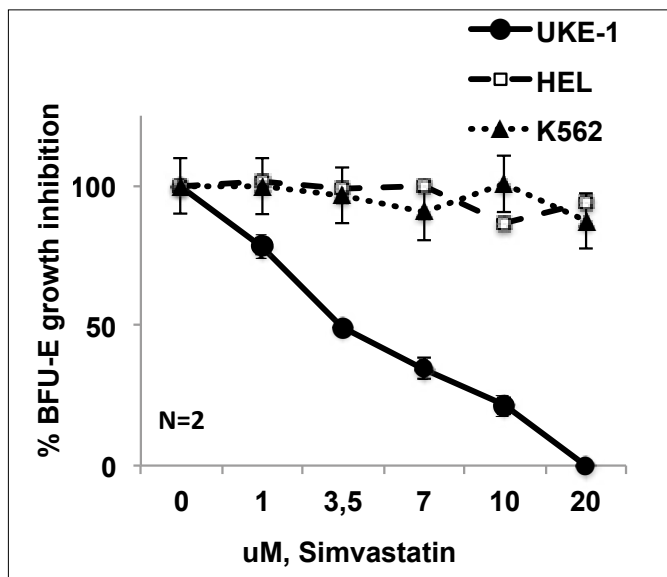


Figura 2. Inhibición de las colonias BFU-E con simvastatina. *Estudios de cultivo de líneas celulares en medio de metilcelulosa a diferentes concentraciones de simvastatina. N: número de experimentos. UKE-1, línea celular homocigota con mutación del gen JAK-2l. K562, línea celular immortalizada a partir de leucemia mieloide crónica en fase blástica. HEL: línea celular derivada de unas células de cáncer cervical obtenidas de una paciente y representada por las iniciales de su nombre.*

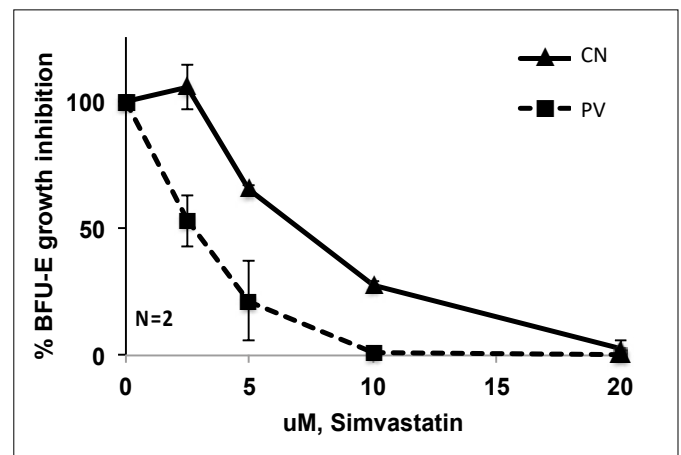


Figura 3. Inhibición de las colonias BFU-E con simvastatina. *Cultivo en medio semisólido de metilcelulosa de CPH de médula ósea a diferentes concentraciones de simvastatina en pacientes con Policitemia Vera (PV) y Controles Normales (CN)*

superior a 95%. Las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) fueron evaluadas por citometría de flujo con anticuerpo CD34. Los cultivos realizados en medio semisólido de metilcelulosa y en medio líquido de RPMI fueron suplementados con Eritropoyetina y Simvastatina.

RESULTADOS E INTERPRETACIONES

Inhibición de la proliferación celular

Las pruebas de proliferación celular realizadas en las líneas celulares UKE-1 y K562 mostraron que, la simvastatina (3.5 μ M) inhibe la proliferación de UKE-1; mientras que, las células K562 no se inhiben en concentraciones similares, pero expuestas a concentraciones mayores la inhibición de la proliferación celular se suscita. Esta ha sido la primera demostración evidente de la actividad antiproliferativa de las estatinas en estas líneas celulares (Figura 1).

Inhibición de colonias BFU-E

Los cultivos de las colonias BFU-E realizadas en las líneas celulares UKE-1 y K562 evidenciaron que, la simvastatina inhibe la formación de las colonias a partir de UKE-1; mientras que, la simvastatina en línea celular K562 no inhibe la formación de estas colonias. De acuerdo con los experimentos realizados, se consideró que la concentración de 3,5 μ M de simvastatina fue la más adecuada para los estudios de biología celular (Figura 2).

Inhibición de colonias BFU-E en Policitemia Vera

Las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) de médula ósea de pacientes con policitemia vera (PV) y controles normales (CN) fueron cultivadas en medio semisólido de metilcelulosa con suplemento de simvastatina a diferentes concentraciones. Se observó que las colonias BFU-E de pacientes con PV fueron inhibidas a partir de 2.5 μ M de simvastatina; mientras que, en los Controles Normales estas colonias no fueron inhibidas en la misma concentración, empero, la inhibición se presentó a concentraciones mayores (Figura 3).

Inhibición de las colonias BFU-E en pacientes con eritrocitosis patológicas

Las CPH de médula ósea de controles normales (CN), pacientes con Eritrocitosis Patológica de Altura (EPA), Eritrocitosis Secundaria (ES) y Policitemia Vera (PV) fueron cultivadas en medio semisólido de metilcelulosa con suplemento de 3.5 μ M de simvastatina. Las colonias BFU-E fueron inhibidas en un 25% en CN, 40% en EPA, 45% en ES y 50% en PV (Figura 4).

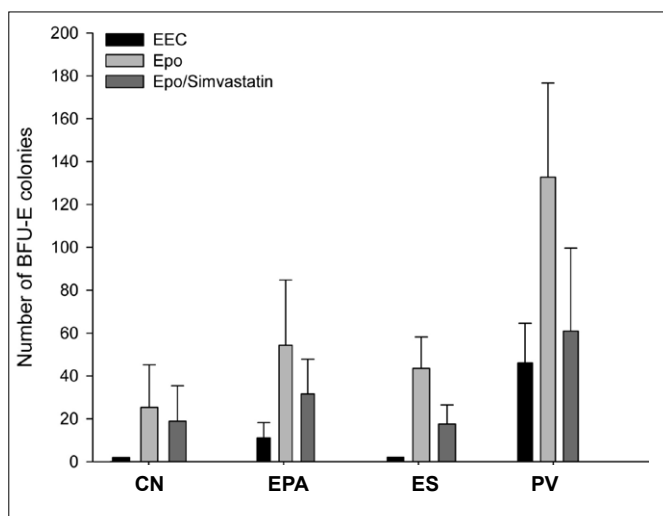


Figura 4. Inhibición de las colonias BFU-E en CN, EPA, ES y PV. Cultivo en medio semisólido de metilcelulosa de CPH de médula ósea a) sin suplemento (barra negra), b) con suplemento de Eritropoyetina 2UI (barra clara), c) con suplementos de Eritropoyetina 2UI y 3.5 μ M de simvastatina (barra gris). CN: controles normales, EPA: eritrocitosis patológica de altura, ES: eritrocitosis secundaria, PV: policitemia vera, EEC: colonias eritroides endógenas. Número de experimentos: 10.

Inhibición de colonias BFU-E en EPA sin tratamiento con atorvastatina

Por un lado, se evidenció que las CPH de médula ósea de pacientes con EPA, sin tratamiento con atorvastatina, cultivadas en medio semisólido de metilcelulosa y suplementadas con 2 UI de eritropoyetina inducen la proliferación de colonias BFU-E hasta el día 18; mientras que, las suplementadas con 2 UI de eritropoyetina y 3 μ M de simvastatina inhiben esta proliferación, y no se observa colonias viables al día 18.

Por otro lado, en el medio de cultivo sin eritropoyetina, se observó la proliferación de colonias BFU-E hasta el día 18, pero no en la misma intensidad que en las suplementadas con eritropoyetina. Mientras tanto, en el medio de cultivo sin eritropoyetina y con suplemento de 3 uM de simvastatina la proliferación de estas colonias es inhibida (Cuadro 1).

Inhibición de Colonias BFU-E en EPA con tratamiento de atorvastatina

Las CPH de médula ósea de pacientes con EPA en tratamiento con 20 mg de atorvastatina VO día por más de 6 meses fueron cultivadas en medio semisólido de metilcelulosa con suplemento de 2 UI de eritropoyetina. Se observó que la eritropoyetina indujo la proliferación de colonias BFU-E hasta el día 14; mientras que, en los cultivos suplementados con 3 uM de simvastatina, esta proliferación fue inhibida.

Así mismo, las CPH de pacientes con EPA en tratamiento con 20 mg de atorvastatina cultivadas en medio semisólido de metilcelulosa sin eritropoyetina y sin simvastatina indujeron la proliferación de colonias BFU-E hasta el día 14, pero no en la misma intensidad que las suplementadas con eritropoyetina. Entre tanto, en las colonias cultivadas sin eritropoyetina y suplementadas con 3 uM de simvastatina, la proliferación fue totalmente inhibida (Cuadro 2).

Inhibición de la diferenciación de colonias BFU-E

Las CPH de médula ósea cultivadas en medio semisólido de metilcelulosa con suplemento de 3.5 uM de simvastatina inhibieron la diferenciación de las colonias BFU-E de pacientes con EPA, expresándose en colonias pequeñas y sin hemoglobinización (Figura 5).

Cuadro 1. Colonias BFU-E en pacientes con EPA sin tratamiento

Pacientes EPA	Suplemento 1	Suplemento 2	Número de BFU-E		
			día 7	día 14	día 18
Sin tratamiento	Epo 2 UI	Sin SMV	71	111	90
		SMV 3 uM	48	73	0
	Sin Epo	Sin SMV	2	25	13
		SMV 3 uM	2	19	0

Cultivo de Células Progenitoras Hematopoyéticas (CPH) suplementadas con Epo y simvastatina. EPA: Eritrocitosis Patológica de Altura; Epo: Eritropoyetina; SMV: Simvastatina.

Cuadro 2. Colonias BFU-E en pacientes con EPA en tratamiento con atorvastatina

Pacientes EPA	Suplemento 1	Suplemento 2	Número de BFU-E		
			día 7	día 14	día 18
En tratamiento con atorvastatina	Epo 2 UI	Sin SMV	119	159	0
		SMV 3 uM	67	92	0
	Sin Epo	Sin SMV	10	11	0
		SMV 3 uM	0	2	0

Cultivo de Células Progenitoras Hematopoyéticas (CPH) con y sin suplemento de Epo y simvastatina. EPA: Eritrocitosis Patológica de Altura; Epo: Eritropoyetina; SMV: Simvastatina.

Inducción de apoptosis celular

Las CPH de pacientes con EPA fueron cultivadas en medio líquido de RPMI con suplemento de simvastatina. Este estudio fue realizado con el

método de Annexina V/7AAD utilizando un citómetro de flujo para el análisis. Se observó una apoptosis celular de 28,9 % con suplemento de simvastatina y 12,3 % sin suplemento de simvastatina (Figura 6).

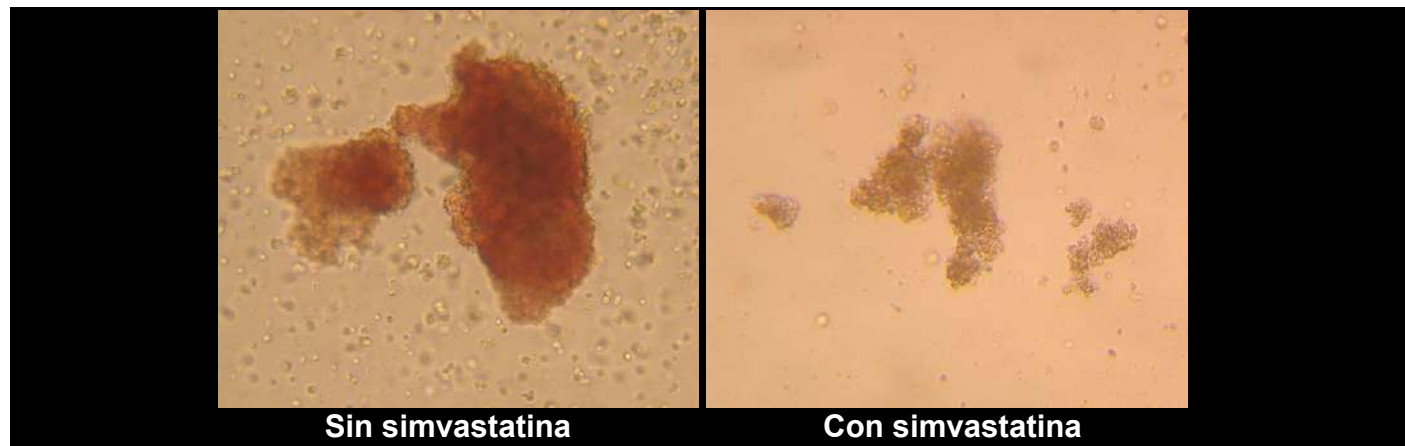


Figura 5. Inhibición de la diferenciación de colonias BFU-E en EPA. A la derecha, se puede observar inhibición de la diferenciación de las colonias BFU-E suplementadas con simvastatina, caracterizada por la presencia de colonias pequeñas y un retardo en la hemoglobinización.

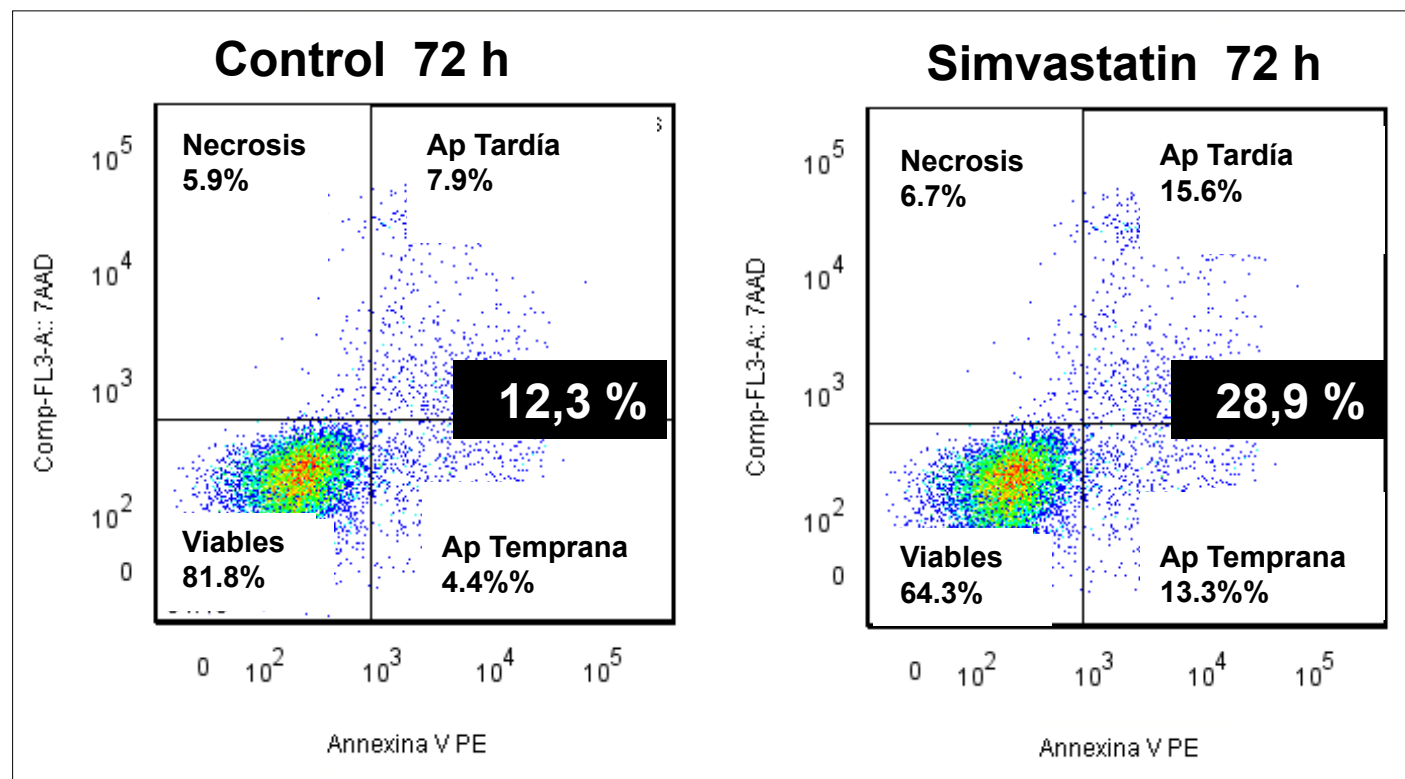


Figura 6. Inducción de la apoptosis de CPH de pacientes con EPA. El cálculo de porcentaje de la apoptosis es producto de la sumatoria de la apoptosis tardía y la apoptosis temprana. Número de experimentos: 12.

CONCLUSIONES

Existen evidencias experimentales de que los productos del mevalonato tales como el farnesil, el dolicol, el geranil y la ubiquinona están implicados en la regulación de la proliferación celular, la diferenciación celular y la apoptosis celular⁽²⁸⁻³²⁾. Los inhibidores de la HMG-CoA reductasa bloquean la vía del mevalonato reduciendo todos sus productos finales. Esto explicaría el rol fundamental de atorvastatina en su acción sobre la apoptosis de la línea eritroide, ya que las eritrocitosis patológicas de altura tienen dos características importantes: la

apoptosis celular retardada y la hipersensibilidad a la eritropoyetina ^(2, 33).

Los experimentos realizados evidencian que la simvastatina inhibe la proliferación y diferenciación tanto de líneas celulares como de progenitores hematopoyéticos (CPH) de pacientes con Eritrocitosis Patológica de Altura. De este modo, la demostración *in vitro* de la eficacia de las estatinas en el tratamiento de las eritrocitosis patológicas se constituye en una base fundamental para el tratamiento de pacientes con EPA, ES y PV en la altura.

Referencias

1. Ricardo A, Miguez H, Peñaloza R, Torres G, Vera O, Velarde J, et al. Eritrocitosis patológica de altura: Caracterización biológica, diagnóstico y tratamiento. Revista Médica La Paz. 2013;19(2):5-18.
2. Amaru R, Quispe T, Torres G, Mamani J, Aguilar M, Miguez H, et al. Caracterización clínica de la eritrocitosis patológica de altura. Revista de Hematología. 2016;17(1):8-20.
3. Amaru R, Vera O, Miguez H, Peñaloza R, Torres G, Velarde J, et al. Mecanismo molecular de las Estatinas en el tratamiento de la Eritrocitosis Patológica de altura. Revista Médica La Paz. 2013;19(2):19-27.
4. Sahebkar A, Simental-Mendía LE, Pedone C, Ferretti G, Nachtigal P, Bo S, et al. Statin therapy and plasma free fatty acids: a systematic review and meta-analysis of controlled clinical trials. British journal of clinical pharmacology. 2016;81(5):807-18.
5. Wong WW, Dimitroulakos J, Minden M, Penn L. HMG-CoA reductase inhibitors and the malignant cell: the statin family of drugs as triggers of tumor-specific apoptosis. Leukemia. 2002;16(4):508-19.
6. Ling Q, Tejada-Simon M. Statins and the brain: new perspective for old drugs. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. 2016;66:80-6.
7. Hasvold P, Thuresson M, Sundström J, Hammar N, Kjeldsen SE, Johansson G, et al. Association between paradoxical HDL cholesterol decrease and risk of major adverse cardiovascular events in patients initiated on statin treatment in a primary care setting. Clinical drug investigation. 2016;36(3):225-33.
8. McCarthy M. US panel recommends statins for adults aged 40 to 75 at 10% or greater risk of cardiovascular disease. British Medical Journal Publishing Group; 2015.
9. Colivicchi F, Sternhufvud C, Gandhi SK. Impact of treatment with rosuvastatin and atorvastatin on cardiovascular outcomes: evidence from the Archimedes-simulated clinical trials. ClinicoEconomics and outcomes research: CEOR. 2015;7:555.
10. Rigoni M, Riganti C, Vitale C, Griggio V, Campia I, Robino M, et al. Simvastatin and downstream inhibitors circumvent constitutive and stromal cell-induced resistance to doxorubicin in IGHV unmutated CLL cells. Oncotarget. 2015;6(30):29833.
11. Shadman M, Mawad R, Dean C, Chen TL, Shannon-Dorcy K, Sandhu V, et al. Idarubicin, cytarabine, and pravastatin as induction therapy for untreated acute myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndrome. American journal of hematology. 2015;90(6):483-6.
12. Ahmed TA, Hayslip J, Leggas M. Simvastatin interacts synergistically with tipifarnib to induce apoptosis in leukemia cells through the disruption of RAS membrane localization and ERK pathway inhibition. Leukemia research. 2014;38(11):1350-7.
13. Pršić A, Kiwanuka E, Caterson SA, Caterson EJ. Anticoagulants and statins as pharmacological agents in free flap surgery: current rationale. Eplasty. 2015;15.
14. Bitto N, Salerno F, Tripodi A, La Mura V. Coagulation and fibrosis: A potential non-negligible target of statins in chronic hepatitis. Journal of hepatology. 2015;63(1):277-8.
15. Li L, Zhang P, Tian JH, Yang K. Statins for primary prevention of venous thromboembolism. Cochrane Database of Systematic Reviews. 2014(12).
16. Chang C-C, Wang S-S, Hsieh H-G, Lee W-S, Chuang C-L, Lin H-C, et al. Rosuvastatin improves hepatopulmonary syndrome through inhibition of inflammatory angiogenesis of lung. Clinical Science. 2015;129(6):449-60.

17. Escudero P, Navarro A, Ferrando C, Furio E, Gonzalez-Navarro H, Juez M, et al. Combined treatment with bexarotene and rosuvastatin reduces angiotensin-II-induced abdominal aortic aneurysm in apo E^{-/-} mice and angiogenesis. *British journal of pharmacology*. 2015;172(12):2946-60.
18. Huang D, Wang F-B, Guo M, Li S, Yan M-L, Yu T, et al. Effect of combined treatment with rosuvastatin and protein kinase C β 2 inhibitor on angiogenesis following myocardial infarction in diabetic rats. *International journal of molecular medicine*. 2015;35(3):829-38.
19. Wang T, Seah S, Loh X, Chan C-W, Hartman M, Goh B-C, et al. Simvastatin-induced breast cancer cell death and deactivation of PI3K/Akt and MAPK/ERK signalling are reversed by metabolic products of the mevalonate pathway. *Oncotarget*. 2016;7(3):2532.
20. Karlic H, Thaler R, Gerner C, Grunt T, Proestling K, Haider F, et al. Inhibition of the mevalonate pathway affects epigenetic regulation in cancer cells. *Cancer genetics*. 2015;208(5):241-52.
21. ALTWAIIRGI AK. Statins are potential anticancerous agents. *Oncology reports*. 2015;33(3):1019-39.
22. Lippert E, Girodon F, Hammond E, Jelinek J, Reading NS, Fehse B, et al. Concordance of assays designed for the quantification of JAK2V617F: a multicenter study. *haematologica*. 2009;94(1):38-45.
23. Quentmeier H, MacLeod R, Zaborski M, Drexler H. JAK2 V617F tyrosine kinase mutation in cell lines derived from myeloproliferative disorders. *Leukemia*. 2006;20(3):471-6.
24. Fiedler W, Henke RP, Ergün S, Schumacher U, Gehling UM, Vohwinkel G, et al. Derivation of a new hematopoietic cell line with endothelial features from a patient with transformed myeloproliferative syndrome: a case report. *Cancer: Interdisciplinary International Journal of the American Cancer Society*. 2000;88(2):344-51.
25. Luzzio CB, Luzzio BB. Human chronic myelogenous leukemia cell-line with positive Philadelphia chromosome. 1975.
26. Klein E, Vánky F, Ben-Bassat H, Neumann H, Ralph P, Zeuthen J, et al. Properties of the K562 cell line, derived from a patient with chronic myeloid leukemia. *International journal of cancer*. 1976;18(4):421-31.
27. Andersson LC, Nilsson K, Gahrberg CG. K562—a human erythroleukemic cell line. *International journal of cancer*. 1979;23(2):143-7.
28. Miettinen TP, Björklund M. Mevalonate pathway regulates cell size homeostasis and proteostasis through autophagy. *Cell reports*. 2015;13(11):2610-20.
29. Ginestier C, Charafe-Jauffret E, Birnbaum D. p53 and cancer stem cells: the mevalonate connexion. *Taylor & Francis*; 2012.
30. van de Donk NW, Bloem AC, Lokhorst HM. New treatment strategies for multiple myeloma by targeting BCL-2 and the mevalonate pathway. *Current pharmaceutical design*. 2006;12(3):327-40.
31. Hasselbalch HC, Riley CH. Statins in the treatment of polycythaemia vera and allied disorders: an antithrombotic and cytoreductive potential? *Leukemia research*. 2006;30(10):1217-25.
32. Griner LN, McGraw KL, Johnson JO, List AF, Reuther GW. JAK 2-V 617 F-mediated signalling is dependent on lipid rafts and statins inhibit JAK 2-V 617 F-dependent cell growth. *British journal of haematology*. 2013;160(2):177-87.
33. Ma J, Ji L, Li Z, Liu H, Zhao C, Xiong H, et al. Downregulation of intrinsic apoptosis pathway in erythroblasts contributes to excessive erythrocytosis of chronic mountain sickness. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*. 2019;76:25-31.

TRATAMIENTO DE LA ERITROCITOSIS PATOLÓGICA DE ALTURA

Amaru Ricardo, Mamani Reyna, Velarde Jeaneth, Patón Daniela, Amaru Ariel, Quispe Teddy.

Unidad de Biología Celular, Facultad de Medicina, UMSA, La Paz, Bolivia.

INTRODUCCIÓN

El tratamiento de las eritrocitosis, particularmente de la Eritrocitosis Patológica de Altura (EPA), ha recurrido a medidas terapéuticas como la flebotomía⁽¹⁻³⁾, eritroaféresis⁽⁴⁻⁶⁾ y el uso de fármacos tales como la medroxiprogesterona⁽⁷⁻⁹⁾, la acetazolamida⁽¹⁰⁻¹³⁾, la almitrina^(14, 15), la teofilina⁽¹⁶⁻¹⁸⁾ y el enalapril^(19, 20). Sin embargo, estos fármacos no son considerados tratamientos de primera línea debido a la presencia de eventos adversos, disponibilidad de los medicamentos y respuestas poco satisfactorias. Esto ha precisado realizar estudios y proponer el empleo de fármacos que puedan controlar la etiopatogenia de la eritropoyesis alterada y las complicaciones presentes en las eritrocitosis tales como los eventos tromboticos y la Hipertensión Arterial Pulmonar (HAP)^(21, 22).

La atorvastatina (ATV) es uno de los fármacos más utilizados en el mundo por su acción inhibidora de la síntesis de novo del colesterol⁽²³⁻²⁶⁾. Su acción pleiotrópica como un inhibidor de la eritropoyesis^(27, 28) y su rol regulador tanto de los eventos tromboticos⁽²⁹⁻³¹⁾ como de la Hipertensión Arterial Pulmonar^(32, 33) la constituyen en uno de los medicamentos más importantes para el tratamiento de las eritrocitosis patológicas. Nuestros estudios *in vitro*⁽³⁴⁾ han permitido evidenciar que la atorvastatina inhibe la proliferación y diferenciación de líneas celulares (UKE1, K562, HEL) así como de células progenitoras hematopoyéticas (CPH) de pacientes con Eritrocitosis Patológica de Altura (EPA), dándole así un rol fundamental por su acción sobre la apoptosis de la línea eritroide.

También, se ha observado el rol relevante del ácido acetilsalicílico (ASA) por su potencial acción reguladora en la disminución de la eritropoyesis. Este fármaco es bastante conocido por su acción como antiagregante plaquetario⁽³⁵⁻³⁷⁾ y últimamente se ha descrito con mayor amplitud su rol como un inhibidor de la proteína NFκB1 que regula la eritropoyesis a través de la disminución de HIF1α y disminución de la eritropoyetina^(3, 38, 39).

Este capítulo se centra en describir el empleo de la atorvastatina y el ácido acetilsalicílico como fármacos eficaces para el tratamiento de la Eritrocitosis Patológica de Altura (EPA).

PROCEDIMIENTOS

Material y métodos

El estudio realizado incluyó 72 sujetos distribuidos en Controles Normales (CN=27) y pacientes con Eritrocitosis Patológica de Altura (EPA= 45), todos ellos de sexo masculino y con radicatura en las ciudades de La Paz y El Alto a 3650 y 4000 m s. n. m. respectivamente. Se recolectó datos clínicos y familiares de la historia clínica de cada paciente. También se obtuvo muestras de sangre venosa periférica para valoración hematológica.

Estudios clínicos y laboratoriales

Los pacientes fueron diagnosticados de acuerdo a criterios establecidos^(1, 40), seguidos de estudios de laboratorio (hemograma, glucemia, ácido úrico, creatinina, bilirrubinas, transaminasas, lactato deshidrogenasa, reticulocitos) y estudios de gabinete (Rx de torax, Ecocardiografía). Se consideró EPA cuando los pacientes presentaron

una hemoglobina superior a 19 g/dl (en varones), sin historia de patología cardiopulmonar y/o tratamiento hormonal que involucrara aumento de eritropoyesis. Asimismo, se consideró sintomatología de hiperviscosidad sanguínea cuando los pacientes reportaron presencia de cefalea, disnea, parestesias, tinnitus, hipersomnia y mareos⁽¹⁾.

Tratamiento y seguimiento de pacientes

Se estableció un protocolo de dos fases, la primera constituida por flebotomías y la segunda por tratamiento farmacológico. La primera fase estableció sangrías de 450 ml semanales, sin reposición, hasta alcanzar una hemoglobina inferior a 18 g/dl. Los CN no aplicaron en esta fase. Posteriormente, la segunda fase se inició apenas alcanzados los niveles de hemoglobina previstos (menor a 18 g/dl para varones). Esta última fase tuvo una duración superior a 3 años.

Los pacientes con EPA recibieron 20 mg VO de atorvastatina diariamente a horas 20:00 y 100 mg VO de ácido acetilsalicílico diariamente en horas desayuno. Los Controles Normales (CN) recibieron 20 mg de atorvastatina por diagnóstico de hipercolesterolemia.

El seguimiento de los pacientes fue realizado mensualmente por consultorio externo. La determinación de eventos trombóticos fue confirmada con Eco Doppler y Tomografía Axial Computarizada. Durante el estudio, los tratamientos concomitantes prohibidos fueron la eritropoyetina, los estrógenos, los andrógenos y los corticoides.

Se monitoreó probables eventos adversos, la ATV fue monitoreada controlando la presencia de dolores musculares y dosificación de la creatinfosfoquinasa (CPK) sérica, el ASA fue monitoreado por la presencia de epistaxis, equimosis y otro tipo de sangrados.

La evaluación se realizó posterior a los 3 años de tratamiento farmacológico considerando los criterios especificados en el Cuadro 1.

RESPUESTA AL TRATAMIENTO

Los Controles Normales no presentaron cambios en los niveles de hemoglobina (Hb) que fueran estadísticamente significativos (Cuadro 2).

Los pacientes con diagnóstico de EPA presentaron una Respuesta Completa de 64 %, Respuesta Parcial 27 % y Sin Respuesta 9 %. Asimismo, los síntomas de hiperviscosidad sanguínea remitieron en un 91 % (Cuadro 3).

Requerimiento de flebotomías

Los pacientes con EPA en tratamiento con ATV y ASA requirieron menor número de sangrías conforme transcurrió el tratamiento. De entre 45 pacientes con EPA, 23 pacientes fueron controlados durante 24 meses para evaluar el requerimiento del número de sangrías. Al sexto mes, 10 de los 23 requirieron sangrías; a los 12 meses, solo 6 requirieron sangrías; y finalmente, a los 24 meses el requerimiento de sangrías se redujo a 4 pacientes (Figura 1).

Así mismo, este grupo fue controlado para evaluar los niveles de hemoglobina. En los primeros 6 meses, la concentración media de hemoglobina redujo a una concentración inferior a 18 g/dl y estos niveles permanecieron durante los 24 meses de seguimiento (Figura 2).

CONCLUSIONES

El tratamiento propuesto evidenció un resultado favorable, expresado en la significativa reducción de los niveles de concentración de hemoglobina y la remisión de la sintomatología de hiperviscosidad sanguínea.

Aproximadamente, el 64 % de los pacientes tratados alcanzó una Respuesta Completa seguida de una buena calidad de vida y un *performance status* de 0. Asimismo, un 27 % de los pacientes lograron una Respuesta Parcial, y a pesar de tener hemoglobinas por encima de los valores normales, la calidad de vida mejoró notablemente, suficiente para que pudieran continuar con sus actividades cotidianas. El 9 % restante no presentó ninguna evolución favorable ni en la clínica ni en los resultados de laboratorio.

Cuadro 1. Criterios para la valoración de respuesta al tratamiento

Respuesta	Hemoglobina	Síntomas de hiperviscosidad	Requerimiento de flebotomías
Completa	< 18 g/dl	No	No
Parcial	18 a 19 g/dl	No	Si
Sin respuesta	> 19 g/dl	Si	Si

Cuadro 2. Respuesta al tratamiento farmacológico en los controles normales

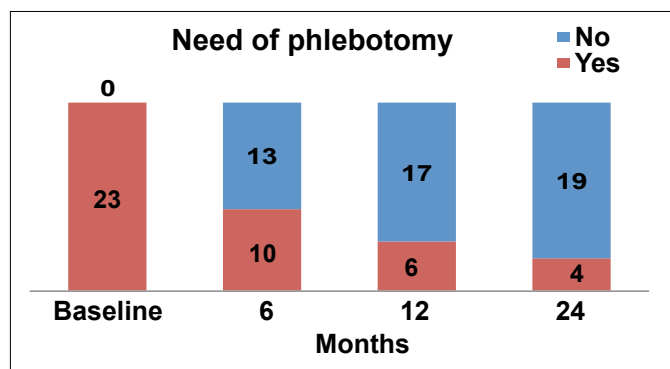
Respuesta	Número pacientes	Edad años	Hb PreTx g/dl	Hb Post Tx g/dl
NA	27	59,6	16,2	16,8

Los datos de edad, hemoglobina están expresados en media aritmética. **Hb**: Hemoglobina, **Tx**: tratamiento.

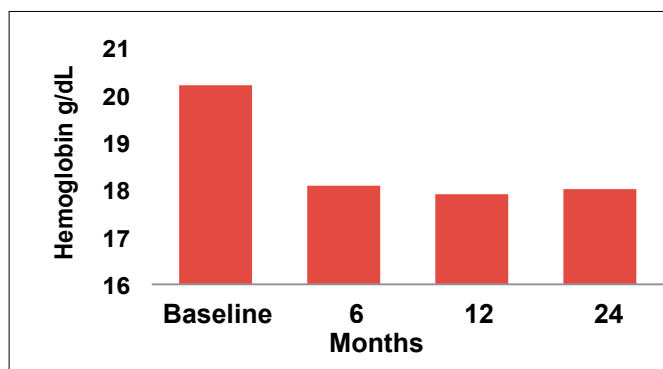
Cuadro 3. Respuesta a tratamiento farmacológico en los pacientes con EPA

Respuesta	Número pacientes	Edad Años	Hb Pre Tx g/dl	Hb Post Tx g/dl	Remisión síntomas	Sangrías sesiones
Completa 64 %	14	59,2	19,7	16,8	Si	0
Parcial 27 %	6	58,3	20,5	16,9	Si	2,5
Sin respuesta 9 %	2	47,5	21,8	19,9	No	7
Total pacientes	22	55,6	20,0	17,0	Si	1,3

Los datos de edad y hemoglobina están expresados en media aritmética. **Hb**: Hemoglobina, **Tx**: tratamiento.

**Figura 1. Requerimiento de sangrías durante el tratamiento**

Existen suficientes datos de que los efectos pleiotrópicos de la ATV benefician a pacientes con eritrocitosis patológicas asociadas a la Hipertensión Arterial Pulmonar (HAP), una complicación clínica desfavorable para los pacientes^(41, 42). Además, disminuye los daños pulmonares producidos por HAP por medio de la inhibición de mecanismos antiinflamatorios e infiltrado pulmonar de macrófagos^(43, 44). Las estatinas también presentan

**Figura 2. Concentración de hemoglobina durante el tratamiento**

acciones pleiotrópicas en la prevención de trombosis venosa profunda y el síndrome post-trombótico, sobre todo en pacientes sin terapia de anticoagulación o sin terapia de antiagregantes plaquetarios⁽⁴⁵⁻⁴⁷⁾.

El ASA, por su parte, juega un rol importante en el tratamiento de la EPA por su acción como antiagregante plaquetario y también por su acción inhibitoria del NFKB1 involucrada en la eritropoyesis.

En conclusión, este protocolo de tratamiento con atorvastatina y ácido acetilsalicílico en la EPA ha sido empleado por más de 10 años y, hasta la fecha no se han evidenciado complicaciones

atípicas o eventos adversos severos, los resultados han permanecido dentro las características y respuestas favorables esperadas.

Referencias

1. Amaru R, Quispe T, Torres G, Mamani J, Aguilar M, Miguez H, et al. Caracterización clínica de la eritrocitosis patológica de altura. *Revista de Hematología*. 2016;17(1):8-20.
2. Gonzales Rengifo GF. Contribución peruana a la hematología en poblaciones nativas de altura. *Acta andin*. 1998;7(2):105-30.
3. Assi TB, Baz E. Current applications of therapeutic phlebotomy. *Blood Transfusion*. 2014;12(Suppl 1):s75.
4. Salinas IP, Flores VR, Montañés MÁ, García-Erce JA. Therapeutic erythroapheresis: Experience in patients with polycythemia vera and secondary erythrocytosis. *Medicina Clínica (English Edition)*. 2020;154(1):16-9.
5. Blaha M, Skořepová M, Mašín V, Špásová I, Parakova Z, Malý J, et al. The role of erythrocytapheresis in secondary erythrocytosis therapy. *Clinical hemorheology and microcirculation*. 2002;26(4):273-5.
6. Pollari G, Antonini V, Izzo A, Moreschini G, Serraino M, Tonelli V, et al. The role of erythrocytapheresis in secondary erythrocytosis therapy. *Clinical hemorheology and microcirculation*. 1999;21(3, 4):353-5.
7. Kryger M, Glas R, Jackson D, McCullough R, Scoggin C, Grover R, et al. Impaired oxygenation during sleep in excessive polycythemia of high altitude: improvement with respiratory stimulation. *Sleep*. 1978;1(1):3-17.
8. Kryger M, McCullough R, Collins D, Scoggin C, Weil J, Grover R. Treatment of excessive polycythemia of high altitude with respiratory stimulant drugs. *American Review of Respiratory Disease*. 1978;117(3):455-64.
9. Ellestad MH. The Mechanism of Exercise-Induced R-Wave Amplitude Changes in Coronary Heart Disease: Still Controversial. *Archives of internal medicine*. 1982;142(5):963-5.
10. Richalet J-P, Rivera-Ch M, Maignan M, Privat C, Pham I, Macarlupu J-L, et al. Acetazolamide for Monge's disease: efficiency and tolerance of 6-month treatment. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2008;177(12):1370-6.
11. Richalet J-P, Rivera M, Bouchet P, Chirinos E, Onnen I, Petitjean O, et al. Acetazolamide: a treatment for chronic mountain sickness. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2005;172(11):1427-33.
12. Pichon A, Connes P, Quidu P, Marchant D, Brunet J, Levy BI, et al. Acetazolamide and chronic hypoxia: effects on haemorheology and pulmonary haemodynamics. *European Respiratory Journal*. 2012;40(6):1401-9.
13. Sharma S, Gralla J, Ordonez JG, Hurtado M-E, Swenson ER, Schoene RB, et al. Acetazolamide and N-acetylcysteine in the treatment of chronic mountain sickness (Monge's disease). *Respiratory physiology & neurobiology*. 2017;246:1-8.
14. Villena M, Vargas E, Guenard H, Nallar N, Tellez W, Spielvogel H. Double-blind study on the action of almitrine in patients with polycythemia of high altitude. *Bulletin europeen de physiopathologie respiratoire*. 1985;21(2):165-70.
15. Favier R, Spielvogel H, Caceres E, Rodriguez A, Sempore B, Pequignot J, et al. Differential effects of ventilatory stimulation by sex hormones and almitrine on hypoxic erythrocytosis. *Pflügers Archiv*. 1997;434(1):97-103.
16. Romero R, Alonso M, Alonso R, Lens X. Tratamiento de la poliglobulia postrasplante con teofilina. *Nefrología*. 1992;12(2):174.
17. Oren R, Beerli M, Hubert A, Kramer MR, Matzner Y. Effect of theophylline on erythrocytosis in chronic obstructive pulmonary disease. *Archives of internal medicine*. 1997;157(13):1474-8.
18. Galindo JL, Granados CE, García-Herreros P, Saavedra A, Sánchez EA. Erythrocytosis Secondary to Hypoxemia in Chronic Lung Diseases: From Rheology to Clinical Practice. *Revista de la Facultad de Medicina*. 2016;64(2):309-17.
19. Akash N, Smadi I, El-Lozi M. Treatment of Post-transplant Erythrocytosis with Enalapril. *Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation*. 1998;9(2):144.
20. Plata R, Cornejo A, Arratia C, Anabaya A, Perna A, Dimitrov BD, et al. Angiotensin-converting-enzyme inhibition therapy in altitude polycythaemia: a prospective randomised trial. *The Lancet*. 2002;359(9307):663-6.

21. Amaru R, Vera O, Loza F, Patón D, Carrasco M, Quispe T. Hipertensión arterial pulmonar en pacientes con eritrocitosis patológicas. *Revista Médica La Paz*. 2019;25(2):27-35.
22. Gangaraju R, Song J, Kim SJ, Tashi T, Reeves BN, Sundar KM, et al. Thrombotic, inflammatory, and HIF-regulated genes and thrombosis risk in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Blood Advances*. 2020;4(6):1115-30.
23. Zhang L, Chen T, Dou Y, Zhang S, Liu H, Khishignyam T, et al. Atorvastatin exerts antileukemia activity via inhibiting mevalonate-YAP axis in K562 and HL60 cells. *Frontiers in oncology*. 2019;9:1032.
24. Penkauskas T, Zentelyte A, Ganpule S, Valincius G, Preta G. Pleiotropic effects of statins via interaction with the lipid bilayer: A combined approach. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*. 2020:183306.
25. Mohammad S, Nguyen H, Nguyen M, Abdel-Rasoul M, Nguyen V, Nguyen C, et al. Pleiotropic effects of statins: untapped potential for statin pharmacotherapy. *Current vascular pharmacology*. 2019;17(3):239-61.
26. Ballantyne CM, Laufs U, Ray KK, Leiter LA, Bays HE, Goldberg AC, et al. Bempedoic acid plus ezetimibe fixed-dose combination in patients with hypercholesterolemia and high CVD risk treated with maximally tolerated statin therapy. *European journal of preventive cardiology*. 2020;27(6):593-603.
27. Pacompia Parasuaña L. Efectividad de la atorvastatina vs acetazolamida atorvastatina en el tratamiento de la eritrocitosis patológica de altura a 3825, hospital III EsSalud Juliaca 2017. 2018.
28. Amaru R, Vera O, Míguez H, Peñaloza R, Torres G, Velarde J, et al. Mecanismo molecular de las Estatinas en el tratamiento de la Eritrocitosis Patológica de altura. *Revista Médica La Paz*. 2013;19(2):19-27.
29. Min L, Shao S, Wu X, Cong L, Liu P, Zhao H, et al. Anti-inflammatory and anti-thrombogenic effects of atorvastatin in acute ischemic stroke. *Neural regeneration research*. 2013;8(23):2144.
30. Rodriguez AL, Wojcik BM, Wroblewski SK, Myers DD, Wakefield TW, Diaz JA. Statins, inflammation and deep vein thrombosis: a systematic review. *Journal of thrombosis and thrombolysis*. 2012;33(4):371-82.
31. Tonu SH, Dewan JF, Hasnat F, Jahan BR. Comparison Between Atorvastatin and Rosuvastatin on Anti-Thrombogenic Effect in Patients with Hyperlipidemia. *Journal of Enam Medical College*. 2018;8(3):153-8.
32. Barbera J, Peinado V, Santos S. Pulmonary hypertension in chronic obstructive pulmonary disease. *European Respiratory Journal*. 2003;21(5):892-905.
33. Jiang X, Yuan L, Li P, Wang J, Wang P, Zhang L, et al. Effect of simvastatin on 5-HT and 5-HTT in a rat model of pulmonary artery hypertension. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2015;37(5):1712-24.
34. Amaru R, Míguez H, Silvestre J, Peñaloza R. Novedoso tratamiento farmacológico de la eritrocitosis patológica de altura con inhibidores de HMG COA reductasa. *Revista médica—Órgano oficial del Colegio Médico de La Paz*. 2004;10(3):7-13.
35. Pettigrew LC, Wu KK, editors. Platelet function and antiaggregant therapy in ischemic stroke. *Seminars in neurology*; 1986: © 1986 by Thieme Medical Publishers, Inc.
36. Arazimtsac HC, Carnevalini M, Falconi E, Ovejero R, Giorgimtsac M, Carolimtsac C, et al. The association of antiplatelet aggregation effect of aspirin and platelet count. Possible dosage implications. *Rev ARgent CARDiol*. 2012;80:114-20.
37. de Araújo A, Sobreira M, de Melo G, Mendonca C, Maranhão E, Leite M, et al. The use of acetylsalicylic acid as a platelet antiaggregant. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 1992;59(2):113-7.
38. Ditsworth D, Zong W-X. NF-kappaB: key mediator of inflammation-associated cancer. *Cancer biology & therapy*. 2004;3(12):1214-6.
39. Kastrati I, Delgado-Rivera L, Georgieva G, Thatcher GR, Frasier J. Synthesis and Characterization of an Aspirin-fumarate Prodrug that Inhibits NFκB Activity and Breast Cancer Stem Cells. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*. 2017(119):e54798.
40. Finazzi G, Gregg XT, Barbui T, Prchal JT. Idiopathic erythrocytosis and other non-clonal polycythemia. *Best Practice & Research Clinical Haematology*. 2006;19(3):471-82.
41. Chen D, Zhou D, Qian J, Chen F, Guan L, Dong L, et al. Atorvastatin prevents dehydromonocrotaline-induced pulmonary hypertension in beagles. *Experimental lung research*. 2012;38(7):333-43.
42. Jasińska-Stroschein M, Owczarek J, Wesołowska A, Orszulak-Michalak D. Rosuvastatin, sildenafil and their combination in monocrotaline-induced pulmonary hypertension in rat. *Acta Pharmaceutica*. 2014;64(3):345-54.

43. Matsuo S, Saiki Y, Adachi O, Kawamoto S, Fukushige S, Horii A, et al. Single-dose rosuvastatin ameliorates lung ischemia–reperfusion injury via upregulation of endothelial nitric oxide synthase and inhibition of macrophage infiltration in rats with pulmonary hypertension. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 2015;149(3):902-9.
44. Jasińska-Stroschein M, Owczarek J, Surowiecka A, Kącikowska J, Orszulak-Michalak D. HMG-CoA reductase inhibitors: an opportunity for the improvement of imatinib safety. An experimental study in rat pulmonary hypertension. *Pharmacological Reports*. 2015;67(1):32-7.
45. Kessinger CW, Kim JW, Henke PK, Thompson B, McCarthy JR, Hara T, et al. Statins improve the resolution of established murine venous thrombosis: reductions in thrombus burden and vein wall scarring. *PLoS One*. 2015;10(2).
46. Lassila R, Jula A, Pitkaniemi J, Haukka J. The association of statin use with reduced incidence of venous thromboembolism: a population-based cohort study. *BMJ open*. 2014;4(11):e005862.
47. Satoh M, Takahashi Y, Tabuchi T, Minami Y, Tamada M, Takahashi K, et al. Cellular and molecular mechanisms of statins: an update on pleiotropic effects. *Clinical Science*. 2015;129(2):93-105.

TRATAMIENTO DE LA ERITROCITOSIS SECUNDARIA EN LA ALTURA

Amaru Ricardo, Velarde Jeaneth, Mamani Reyna, Carrasco Mireya, Patón Daniela, Amaru Ariel.

Unidad de Biología Celular, Facultad de Medicina, UMSA, La Paz, Bolivia.

Instituto Boliviano de Oncohematología 'Paolo Belli', La Paz, Bolivia.

INTRODUCCIÓN

Las Eritrocitosis Secundarias (ES) constituyen el 90% de las eritrocitosis observadas en consulta médica en la altura y tienen como característica común presentar una eritropoyetina sérica (Epo) elevada y eventos trombóticos, considerando que este grupo de pacientes generalmente presenta factores de riesgos cardiovasculares ⁽¹⁻³⁾. Asimismo, las ES tienen características particulares que requieren un tratamiento particular como en las asociadas a enfermedades oncológicas o estenosis de arteria renal ⁽⁴⁻⁹⁾. De esa forma, con fines prácticos y de tratamiento, las ES se pueden agrupar en adquiridas y congénitas (Esquema 1).

La etiología diversa de la ES hace necesario proponer fármacos que puedan controlar la etiopatogenia de la eritropoyesis y las complicaciones presentes en las eritrocitosis como los eventos trombóticos (TVP), Hipertensión Arterial Sistémica (HAS) y la Hipertensión Arterial Pulmonar (HAP) ⁽¹⁰⁻¹²⁾.

El tratamiento de la ES ha recurrido a medidas terapéuticas como la flebotomía ^(2, 13-16), la eritroaféresis ⁽¹⁷⁻¹⁹⁾, el uso de broncodilatadores como agentes coadyuvantes a mejorar la ventilación pulmonar ⁽²⁰⁻²²⁾ y el empleo de distintos fármacos científicamente reportados ⁽²³⁻²⁵⁾. En los últimos años, se ha incluido fármacos como la teofilina por su efecto broncodilatador en el tratamiento de la ES asociada a EPOC ⁽²⁰⁻²²⁾, la metformina por su efecto regulador del peso corporal y su capacidad de inhibir la eritropoyesis en la ES asociada a obesidad ⁽²⁶⁻²⁸⁾ y, recientemente el ascorbato en la ES asociada a incremento de testosterona como un

inhibidor de la eritropoyesis vía disminución del factor inductor de la hipoxia (HIF) y eritropoyetina (Epo) ^(26, 29-31).

En nuestro contexto, la atorvastatina (ATV) y el ácido acetil salicílico (ASA) se han constituido la base del tratamiento farmacológico de la ES por su actividad inhibitoria de la eritropoyesis, la agregación antiplaquetaria e inhibición del gen NFKB1 ^(32, 33). De este modo, en el presente capítulo se describe los resultados obtenidos del tratamiento con ATV y ASA en las eritrocitosis secundarias más frecuentes, ES asociada a EPOC y ES asociada a obesidad.

Esquema 1. Clasificación de la Eritrocitosis Secundaria según importancia clínica

a. Adquiridas

- Secundaria a EPOC (Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica)
- Secundaria a Obesidad / Síndrome metabólico
- Síndrome de apnea del sueño
- Eritrocitosis por cardiopatía adquirida
- Tabaquismo
- Testosterona incrementada

b. Congénitas

- Cardiopatías congénitas
- Estenosis de arteria renal

La presente clasificación está desarrollada sobre la base de la frecuencia de presentación y la importancia clínica para el tratamiento de las ES en la altura.

PROCEDIMIENTOS

Material y métodos

Se realizó un estudio prospectivo longitudinal que incluyó 101 personas distribuidas en dos grupos: 25 pacientes con Eritrocitosis Secundaria asociada a EPOC (ES a EPOC) y 76 con Eritrocitosis Secundaria asociada a obesidad (ES a Obesidad), todos ellos con radicación en las ciudades de La Paz y El Alto a 3650 y 4000 m s. n. m. respectivamente. Datos clínicos y familiares fueron extractados de la historia clínica de los pacientes. También se obtuvo muestras de sangre venosa periférica para valoración hematológica.

Estudios clínicos y laboratoriales

El diagnóstico de ES a EPOC se realizó de acuerdo a criterios estándar ⁽³⁴⁾, y el diagnóstico de ES a Obesidad consideró el grado de obesidad empleando la clasificación recomendada por la OMS ⁽³⁵⁾. La hiperviscosidad sanguínea se definió según la presencia de dos o más síntomas tales como cefalea, disnea, parestesia y tinnitus. Todas las características clínicas y laboratoriales de los pacientes estudiados se detallan en el Cuadro 1.

Tratamiento y seguimiento de pacientes

Se estableció un protocolo de tratamiento que contempló dos fases; la primera, constituida por flebotomías; la segunda, compuesta por tratamiento farmacológico.

La primera fase estableció sangrías de 450 ml semanales, sin reposición, hasta alcanzar una hemoglobina inferior a 18 g/dl.

La segunda fase se inició apenas alcanzados los niveles de hemoglobina establecidos. Todos los pacientes (ES a EPOC, ES a Obesidad) recibieron 20 mg de ATV y 100 mg de ASA VO día. Durante el estudio, los tratamientos concomitantes prohibidos fueron la eritropoyetina, los estrógenos, los andrógenos y los corticoides.

El seguimiento de los pacientes fue realizado mensualmente por consultorio externo. El análisis de eventos trombóticos fue confirmado con Eco Doppler y Tomografía Axial Computarizada. La evaluación se realizó posterior a un año de tratamiento farmacológico como mínimo y según criterios especificados en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Criterios de valoración de respuesta al tratamiento farmacológico

RESPUESTA (criterios)	Hemoglobina g/dl	Síntomas de hiperviscosidad
Completa	< 18	No
Parcial	18 a 19	No
Sin respuesta	> 19	Si

RESPUESTA AL TRATAMIENTO

Se observó que las respuestas ‘Completa’ y ‘Parcial’ al tratamiento fueron clínicamente aceptables considerando que estos grupos de pacientes manifestaron una notable mejora en la calidad de vida y en el desempeño de sus actividades laborales; mientras que, el grupo de pacientes ‘Sin respuesta’ manifestaron una mejora parcial de su calidad de vida sobre todo los días posteriores a las sangrías.

Cuadro 1. Características de los pacientes con Eritrocitosis Secundaria

	Nº Ptes M/V	Edad (años)	Hb g/dl	Síntomas de hiperviscosidad	Follow up (meses)
EPOC	7/18	63 ± 11	19.7 ± 2.2	25 100%	36 ± 19
Obesidad	22/54	57 ± 9	20.1 ± 2.2	76 100%	33 ± 19
Total	29/72	57 ± 10	20.1 ± 2.2	101 100%	33 ± 19

Los datos están expresados en media aritmética y desviación estándar. **Nº Ptes:** número de pacientes. **M:** mujeres, **V:** varones. **Hb:** Hemoglobina.

Ningún paciente presentó eventos trombóticos durante el tratamiento.

ATV y ASA en pacientes con Eritrocitosis Secundaria asociada a EPOC

El 80 % de los pacientes con ES a EPOC presentaron respuestas Completa y Parcial, manifestando mejoras en su calidad de vida de forma evidente; el requerimiento de sangrías se redujo a 2 sangrías al año. Un 20 % de los pacientes no respondieron al tratamiento, se observó que su calidad de vida no mejoró de acuerdo a las expectativas, además el requerimiento de sangrías de 4 al año persistió (Cuadro 3).

ATV y ASA en pacientes con Eritrocitosis Secundaria asociada a Obesidad

Se observó una respuesta favorable al tratamiento en el 53 % de los pacientes con ES a Obesidad quienes manifestaron una mejora en su calidad de vida. La diferencia entre el grupo de respuesta ‘Completa’ y ‘Parcial’ radicó en que los primeros requirieron 1 sola sangría al año, y los segundos 2 sangrías al año. Por otro lado, el 47 % de los pacientes no presentaron una respuesta satisfactoria (Cuadro 4).

Considerando las ES según grados de obesidad, los pacientes con grados de obesidad I y II tuvieron comportamientos similares, más de la

Cuadro 3. Respuesta al tratamiento farmacológico en pacientes con ES a EPOC

Respuesta	%	Nº Ptes M/V	Edad (años)	Hb g/dl Pre Tx	Hb g/dl Post tx	Remisión Síntomas	Sangrías (año)	Follow up (meses)	ET %
Completa	44	3/8	63 ± 14	19.5 ± 2.3	16.3 ± 1.4	11 100%	2.0	33 ± 21	0
Parcial	36	2/7	65 ± 9	19.1 ± 1.7	18.5 ± 0.5	9 100%	2.4	34 ± 16	0
Sin respuesta	20	2/3	61 ± 8	21.5 ± 2.0	21.1 ± 0.8	0 0%	4.0	45 ± 18	0 0 %
Total	100	7/18	63 ± 11	19.7 ± 2.2	18.1 ± 1.1	20 80%	2.6	36 ± 19	0 0 %

Los datos están expresados en media aritmética y desviación estándar. **Nº Ptes:** número de pacientes. **M:** mujeres, **V:** varones. **Hb:** Hemoglobina, **Pre Tx:** pretratamiento, **Post Tx:** post tratamiento, **ET:** evento trombótico.

Cuadro 4. Respuesta al tratamiento farmacológico en pacientes con ES a Obesidad

Respuesta	%	Nº Ptes M/V	Edad (años)	Hb g/dl Pre Tx	Hb g/dl Post tx	Remisión Síntomas	Sangrías (año)	Follow up (meses)	ET %
Completa	30	10/13	62 ±11	19.1 ± 1.6	16.8 ± 1.1	23 100 %	0.9	31 ± 21	0
Parcial	23	8/9	58 ± 8	19.5 ± 1.3	18.5 ± 0.3	17 100 %	2.1	36 ± 21	0
Sin respuesta	47	4/32	54 ± 8	21.0 ± 2.5	20.2 ± 1.1	0 0 %	3.4	32 ± 17	0 0 %
Total	100	22/54	57 ± 9	20.1 ± 2.2	18.8 ±1.7	40 53 %	3.7	33 ± 19	0 0 %

Los datos están expresados en media aritmética y desviación estándar. **Nº Ptes:** número de pacientes, **M:** mujeres, **V:** varones, **Hb:** Hemoglobina, **Pre Tx:** pretratamiento, **Post Tx:** post tratamiento, **ET** evento trombótico.

Cuadro 5. Respuesta a tratamiento en pacientes con ES a Obesidad moderada (grado I)

Respuesta	%	Nº Ptes M/V	Edad (años)	Hb g/dl Pre Tx	Hb g/dl Post tx	Remisión síntomas	Sangrías (año)	Follow up (meses)	ET %
Completa	35	3/9	62 ± 9	18.8 ± 1.7	16.8 ± 1.2	12 100 %	1.8	32 ± 20	0
Parcial	18	2/4	58 ± 12	20.2 ± 1.7	18.5 ± 0.3	6 100 %	1.5	45 ± 17	0
Sin respuesta	47	2/14	56 ± 9	19.9 ± 1.9	20.0 ± 0.9	0 0 %	2.9	27 ± 17	0 0 %
Total	100	7/27	58 ± 10	19.6 ± 1.8	18.6 ± 1.7	18 53 %	2.3	32 ± 19	0 0 %

Los datos están expresados en media aritmética y desviación estándar. **Nº Ptes:** número de pacientes, **M:** mujeres, **V:** varones, **Hb:** Hemoglobina, **Pre Tx:** pretratamiento, **Post Tx:** post tratamiento, **ET:** evento trombótico.

Cuadro 6. Respuesta a tratamiento en pacientes con ES a Obesidad severa (grado II)

Respuesta	%	Nº Ptes M/V	Edad años	Hb g/dl Pre Tx	Hb g/dl Post tx	Remisión síntomas	Sangrías (año)	Follow up (meses)	ET %
Completa	28	3/4	64 ± 13	19.6 ± 1.6	17.0 ± 1.0	7 100 %	1.3	34 ± 28	0
Parcial	32	3/5	55 ± 7	19.0 ± 1.0	18.6 ± 0.2	8 100 %	2.7	26 ± 19	0
Sin respuesta	40	0/10	51 ± 7	21.5 ± 2.6	20.1 ± 1.1	0 0%	3.0	34 ± 15	0 0 %
Total pacientes	100	6/19	56 ± 10	20.2 ± 2.2	18.8 ± 1.5	15 60 %	2.4	31 ± 20.0	0 0 %

Los datos están expresados en media aritmética y desviación estándar. **Nº Ptes:** número de pacientes, **M:** mujeres, **V:** varones, **Hb:** Hemoglobina, **Pre Tx:** pretratamiento, **Post Tx:** post tratamiento, **ET:** evento trombótico.

Cuadro 7. Respuesta a tratamiento en pacientes con ES a Obesidad mórbida (grado III)

Respuesta	%	Nº Ptes M/V	Edad años	Hb g/dl Pre Tx	Hb g/dl Post tx	Remisión síntomas	Sangrías (año)	Follow up (meses)	ET %
Completa	24	4/0	61 ± 14	19.2 ± 0.2	16.2 ± 0.9	4 100%	2.7	25 ± 12	0
Parcial	17	3/0	62 ± 3	19.2 ± 0.2	18.2 ± 0.2	3 100%	2.7	44 ± 26	0
Sin respuesta	59	2/8	52 ± 6	22.1 ± 2.8	20.8 ± 0.9	0 0%	4.3	38 ± 18	0 0 %
Total	100	9/8	56 ± 9	20.9 ± 2.6	19.2 ± 2.1	7 41%	3.7	36 ± 18	0 0 %

Los datos están expresados en media aritmética y desviación estándar. **Nº Ptes:** número de pacientes, **M:** mujeres, **V:** varones, **Hb:** Hemoglobina, **Pre Tx:** pretratamiento, **Post Tx:** post tratamiento, **ET:** evento trombótico.

mitad de ellos reflejaron una respuesta favorable reportando mejora en su calidad de vida; mientras que, en aquellos con grado de obesidad III solo el 41 % reflejaron una respuesta favorable (Cuadros 4,5,6 y 7).

Comparando estos 3 grupos de obesidad, se observó que el grupo de grado I tuvo más remisiones completas que los del grupo de grado III (35 % vs 24 %), además que las sangrías anuales fueron menores en el grupo de grado I (2,3 vs 3,7); por lo tanto, se evidenció que a mayor grado de obesidad mayor dificultad de respuesta al tratamiento (Cuadro 8).

CONCLUSIONES

El objetivo ideal del éxito del tratamiento de las Eritrocitosis Secundarias es mantener la hemoglobina dentro de parámetros normales sin la necesidad de realizar sangrías.

El tratamiento de la Eritrocitosis Secundaria a EPOC con ATV y ASA no logra el objetivo ideal, pero alcanza un 80 % de respuesta favorable (Remisión Completa 44 % y Parcial 36 %) y permite a los pacientes mejorar su calidad de vida. El 20 % los pacientes sin respuesta al tratamiento generalmente presentan ligeras mejoras en su calidad de vida posterior a las sangrías. Probablemente, una buena estrategia para mejorar la respuesta al tratamiento farmacológico en pacientes con ES a EPOC debe considerar incluir la teofilina (36-38), y prever además que algunos pacientes pueden ya tenerlo prescrito por un neumólogo.

Así mismo, el tratamiento la Eritrocitosis Secundaria a Obesidad con ATV y ASA alcanza

un 53 % de respuesta favorable en beneficio de estos pacientes, principalmente en los pacientes con grados de obesidad I y II (obesidad moderada y severa). Mientras, los pacientes con grado de obesidad III (obesidad mórbida) no se benefician del tratamiento, requieren más sangrías que los otros grupos y solo un 24 % presenta remisión completa. Esto permite considerar que la ES a obesidad debe incluir en el tratamiento la necesidad de bajar de peso; además, incluir la metformina al tratamiento farmacológico por su actividad hipoglucemiante y actividad inhibitoria de la eritropoyesis (26, 39-42).

En conclusión, el tratamiento instaurado con base en ATV y ASA aporta más beneficios a los pacientes con ES a EPOC. Sin embargo, ambos grupos, tanto ES a EPOC como en ES a Obesidad, requieren que la respuesta completa sea mejorada; por lo tanto, según la etiología se recomienda incluir la teofilina de acción prolongada 250 mg VO día en pacientes con ES a EPOC y la metformina 850 mg VO día para los pacientes con ES a Obesidad.

Limitaciones del estudio

Durante el periodo de tratamiento, algunos pacientes (cantidad no determinada), suspendieron la toma de los medicamentos (ATV, ASA) ya sea por que cursaban alguna enfermedad o no disponían de los medicamentos; probablemente, este periodo osciló entre 1 a 2 semanas sobre todo en pacientes con seguimiento largo, lo cual podría haber repercutido en el alcance de una remisión completa al tratamiento.

Cuadro 8. Comparación de respuesta a tratamiento entre ES a Obesidad y ES a EPOC

Respuesta	Remisión Completa	Remisión Parcial	Sin Respuesta	Sangrías (año)	Remisión Síntomas	Evento trombótico
Obesidad I	35 %	18 %	47 %	2.3	53 %	0 %
Obesidad II	28 %	32 %	40 %	2.4	60 %	0 %
Obesidad III	24 %	17 %	59 %	3.7	41 %	0 %
EPOC	44 %	36 %	20 %	2.6	80 %	0 %

Referencias

1. Ricardo A, Miguez H, Peñaloza R, Torres G, Vera O, Velarde J, et al. Eritrocitosis patológica de altura: Caracterización biológica, diagnóstico y tratamiento. *Revista Médica La Paz*. 2013;19(2):5-18.
2. Amaru Lucana R, Vera Carrasco O. Guía para el diagnóstico y tratamiento de las eritrocitosis patológicas en la altura. *Revista Médica La Paz*. 2016;22(2):70-7.
3. Gordeuk VR, Key NS, Prchal JT. Re-evaluation of hematocrit as a determinant of thrombotic risk in erythrocytosis. *haematologica*. 2019;104(4):653-8.
4. Chen H, Pang D, Song J, Cui Y, Liu J, Hao H, et al. Clinical Analysis on Perioperative Treatment of Secondary Erythrocytosis of Renal Carcinoma. *Journal of Shanxi Medical College for Continuing Education*. 2007;2.
5. Lezrek M, Fassi-Fehri H, Badet L, Marechal J, Martin X. Remission of erythrocytosis and hypertension after treatment of a giant renal cyst. *Urology*. 2002;60(1):164.
6. King AJ, Eyre T, Littlewood T. Obstructive sleep apnoea does not lead to clinically significant erythrocytosis. *Bmj*. 2013;347:f7340.
7. Argumanis E, Quispe D, Ruiz E. Eritrocitosis asociada a carcinoma hepatocelular: reporte de dos casos. *Revista de Gastroenterología del Perú*. 2002;22(1):84-7.
8. Reyes MM, Ríos JP, Guerra MM, Bustamante GP. Eritrocitosis sintomática en un adulto con persistencia del conducto arterioso y síndrome de Eisenmenger. Presentación de un caso. *Medicina Interna de México*. 2010;26(2).
9. Lundy SD, Parekh NV, Shoskes DA. Obstructive Sleep Apnea Is Associated With Polycythemia in Hypogonadal Men on Testosterone Replacement Therapy. *The Journal of Sexual Medicine*. 2020.
10. Amaru R, Vera O, Loza F, Patón D, Carrasco M, Quispe T. Hipertensión Arterial Pulmonar En Pacientes Con Eritrocitosis Patológicas. *Revista Médica La Paz*. 2019;25(2):27-35.
11. Amaru R, Quispe T, Torres G, Mamani J, Aguilar M, Miguez H, et al. Caracterización clínica de la eritrocitosis patológica de altura. *Revista de Hematología*. 2016;17(1):8-20.
12. Guzmán REG. Artículo de revision. Eritrocitosis secundaria.
13. Gonzales Rengifo GF. Contribución peruana a la hematología en poblaciones nativas de altura. *Acta andin*. 1998;7(2):105-30.
14. Lechuga G, Chavez N, Frati M, Graef S, Garcia-Arreola R. Eritropoyetina en pacientes con eritrocitosis secundaria sometidos a hemodilución contra sangría. *Developments in Radioimmunoassay and related procedures*. 1991:301.
15. Cruz JC, Diaz C, Marticorena E, Hilario V. Phlebotomy improves pulmonary gas exchange in chronic mountain polycythemia. *Respiration*. 1979;38(6):305-13.
16. Dayton LM, McCullough R, Scheinhorn DJ, Weil JV. Symptomatic and pulmonary response to acute phlebotomy in secondary polycythemia. *Chest*. 1975;68(6):785-90.
17. Blaha M, Skořepová M, Mašin V, Špášová I, Parakova Z, Malý J, et al. The role of erythrocytapheresis in secondary erythrocytosis therapy. *Clinical hemorheology and microcirculation*. 2002;26(4):273-5.
18. Salinas IP, Flores VR, Montañés MÁ, García-Erce JA. Therapeutic erythroapheresis: Experience in patients with polycythemia vera and secondary erythrocytosis. *Medicina Clínica (English Edition)*. 2020;154(1):16-9.
19. Jaiyesimi F. Erythropheresis in children with polycythaemia. *Annals of tropical paediatrics*. 1986;6(1):51-7.
20. Galindo JL, Granados CE, García-Herreros P, Saavedra A, Sánchez EA. Erythrocytosis Secondary to Hypoxemia in Chronic Lung Diseases: From Rheology to Clinical Practice. *Revista de la Facultad de Medicina*. 2016;64(2):309-17.
21. Galindo Pedraza JL. Eritrocitosis secundaria a hipoxemia como factor pronóstico en pacientes con neumopatía crónica exacerbada. Fundación Hospital San Carlos. Bogotá DC, Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
22. Lazo AD. Cor Pulmonale Crónico: Aspectos Clínicos Epidemiológicos en adultos de altura 2000. *Revista Peruana de Cardiología*. 2009;35(1):45.
23. Pearson T, Messinezy M. Idiopathic erythrocytosis, diagnosis and clinical management. *Pathologie Biologie*. 2001;49(2):170-7.
24. Cario H. Childhood polycythemia/erythrocytosis: classification, diagnosis, clinical presentation, and treatment. *Annals of hematology*. 2005;84(3):137-45.
25. Vlahakos DV, Marathias K, Kosmas E. Losartan reduces hematocrit in patients with chronic obstructive pulmonary disease and secondary erythrocytosis. *Annals of internal medicine*. 2001;134(5):426-7.
26. Machado-Neto JA, Fenerich BA, Scopim-Ribeiro R, Eide CA, Coelho-Silva JL, Dechandt CRP, et al. Metformin exerts multitarget antileukemia activity in JAK2 V617F-positive myeloproliferative neoplasms. *Cell death & disease*. 2018;9(3):1-16.

27. Zhao B, Luo J, Yu T, Zhou L, Lv H, Shang P. Anticancer mechanisms of metformin: A review of the current evidence. *Life Sciences*. 2020;117717.
28. Saito T, Itoh M, Tohda S. Metformin suppresses the growth of leukemia cells partly through downregulation of AXL receptor tyrosine kinase. *Leukemia Research*. 2020;106383.
29. Deruyver Y, Gabriel C, Debussche S, Waterloos M, Huybrechts S, Dekuyper P, et al. An excessive testosterone producing testicular Leydig cell tumor as a rare cause of secondary acquired erythrocytosis. *Urology*. 2020.
30. Kawashima I, Kirito K. Metformin inhibits JAK2V617F activity in MPN cells by activating AMPK and PP2A complexes containing the B56 α subunit. *Experimental hematology*. 2016;44(12):1156-65. e4.
31. Smith TG, Robbins PA, Ratcliffe PJ. The human side of hypoxia-inducible factor. *British journal of haematology*. 2008;141(3):325-34.
32. Amaru R, Vera O, Miguez H, Peñaloza R, Torres G, Velarde J, et al. Mecanismo molecular de las Estatinas en el tratamiento de la Eritrocitosis Patológica de altura. *Revista Médica La Paz*. 2013;19(2):19-27.
33. Amaru R, Villarroel M, Miguez H, Peñaloza R, Torres G, Barbui T, et al. Hematopoietic Progenitor Cells From Patients with Chronic Mountain Sickness Lack the JAK2V617F Mutation, Show Hypersensitivity to Erythropoietin and Are Inhibited by Statins. *American Society of Hematology*; 2009.
34. De Miguel Díez J, Alonso JI, París JM, González-Moro JR, de Lucas Ramos P, Alonso-Vega GG. Fiabilidad del diagnóstico de la EPOC en atención primaria y neumología en España. Factores predictivos. *Archivos de Bronconeumología*. 2003;39(5):203-8.
35. Moreno GM. Definición y clasificación de la obesidad. *Revista Médica Clínica Las Condes*. 2012;23(2):124-8.
36. Navarro Reynoso F. Efecto de las combinaciones salbutamol-ipratropio y salbutamol-tiotropio inhalados y teofilina vía oral en pacientes con EPOC. Análisis de costo/ efectividad. *Revista del Unidad Nacional de Enfermedades Respiratorias*. 2006;19(2):122-6.
37. Miravittles M. Tratamiento individualizado de la EPOC: una propuesta de cambio. *Archivos de Bronconeumología*. 2009;45:27-34.
38. Dreyse J, Silva F, Díaz O, Borzone G, Lisboa C. Beneficios clínicos y funcionales de agregar teofilina a la terapia inhalatoria con broncodilatadores de acción corta en pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica. *Revista médica de Chile*. 2005;133(10):1211-9.
39. Fenerich BA, Fernandes JC, Alves APNR, Coelho-Silva JL, Scopim-Ribeiro R, Scheucher PS, et al. NT157 has antineoplastic effects and inhibits IRS1/2 and STAT3/5 in JAK2 V617F-positive myeloproliferative neoplasm cells. *Signal transduction and targeted therapy*. 2020;5(1):1-10.
40. Harborne LR, Sattar N, Norman JE, Fleming R. Metformin and weight loss in obese women with polycystic ovary syndrome: comparison of doses. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2005;90(8):4593-8.
41. Malin SK, Kashyap SR. Effects of metformin on weight loss: potential mechanisms. *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*. 2014;21(5):323-9.
42. Chukir T, Mandel L, Al-Mulla N, Kumar RB, Igel LI, Waitman J, et al. MON-LB102 Metformin-Induced Weight Loss in Patients With or Without Type 2 Diabetes/Prediabetes. *Journal of the Endocrine Society*. 2020;4(Supplement_1):MON-LB102.

HIDROXIUREA EN EL TRATAMIENTO DE LA ERITROCITOSIS SECUNDARIA EN ADULTOS MAYORES CONTRAINDICADOS PARA FLEBOTOMÍA

Amaru Ricardo, Vera Oscar, Paton Daniela, Carrasco Mireya, Mamani Reyna, Velarde Jeaneth, Amaru Ariel.

Unidad de Biología Celular, Facultad de Medicina, UMSA, La Paz, Bolivia.

Cátedra de Farmacología, Facultad de Medicina, UMSA, La Paz, Bolivia.

Instituto Boliviano de Oncohematología 'Paolo Belli', La Paz, Bolivia.

INTRODUCCIÓN

Los medicamentos quimioterápicos tienen una actividad farmacológica que puede ser de utilidad en varias enfermedades no neoplásicas, así por ejemplo, el uso del metotrexato ^(1, 2) o del rituximab ^(3, 4) en el tratamiento de la artritis reumatoide, la ciclofosfamida en el lupus eritematoso sistémico ^(5, 6) y la hidroxiurea en otras enfermedades hematológicas.

La hidroxiurea (HU) es un fármaco que inhibe la síntesis del DNA actuando como un inhibidor de la enzima ribonucleótido reductasa, sin interferir con la síntesis de RNA o de las proteínas ^(7, 8). La HU es empleada habitualmente en el tratamiento de neoplasias mieloproliferativas como la Policitemia Vera ^(9, 10), sin embargo, también es empleada en el tratamiento de enfermedades hematológicas no neoplásicas como el síndrome de activación mastocitaria ⁽¹¹⁾, la anemia falciforme ^(12, 13) y la eritrocitosis secundaria a cardiopatías congénitas donde su aplicabilidad ha proporcionado resultados prometedores sobre todo en edad pediátrica ⁽¹⁴⁻¹⁶⁾.

Referido a lo anterior, la eritrocitosis, caracterizada por un aumento de la masa eritrocitaria, es una enfermedad hematológica frecuente en poblaciones residentes a grandes alturas y su prevalencia difiere de acuerdo con la región, altura y tiempo de residencia ^(17, 18). El tratamiento inicial de las distintas eritrocitosis patológicas en la altura consiste en realizar

flebotomías para compensar las alteraciones hemodinámicas y alcanzar la remisión de los síntomas de hiperviscosidad sanguínea. Posteriormente, el tratamiento de mantenimiento conlleva el uso de la atorvastatina (ATV) que actúa como inhibidor de la eritropoyesis ⁽¹⁹⁾ y el ácido acetilsalicílico (ASA) que actúa como antiagregante plaquetario ^(20, 21).

La ATV es uno de los fármacos más utilizados en el mundo por su acción inhibidora de la síntesis de novo del colesterol, acción pleiotrópica inhibidora de la eritropoyesis, reguladora de los eventos trombóticos y de la Hipertensión Arterial Pulmonar; por lo que, este medicamento se constituye en uno de los más importantes para el tratamiento de las eritrocitosis patológicas ⁽²²⁻²⁴⁾. Conjuntamente, el ASA es considerado relevante no solo por su acción como antiagregante plaquetario sino también como inhibidor de la proteína NFkB1 que está involucrada en la fisiopatología de la eritrocitosis como reguladora potencial en la disminución de la eritropoyesis vía disminución de HIF1a ⁽²⁵⁻²⁸⁾. De esta forma, el tratamiento de mantenimiento con ATV y ASA permite prevenir eventos trombóticos e incremento de la hemoglobina, alcanza un 60 % de respuesta favorable y un 30 % de respuesta parcial, datos confirmados también por las experiencias de otros grupos de estudio ⁽²⁹⁾.

En los últimos años, también se ha observado la utilidad de la ATV y ASA asociada a la HU que es

un fármaco de primera elección en el tratamiento de la Policitemia Vera. Se ha reportado que el empleo de la HU asociada con atorvastatina y ASA presenta resultados prometedores y mejor respuesta en comparación al tratamiento realizado solo con HU (30, 31). Algunos autores indagan que, el uso de HU a largo plazo podría inducir la presencia de eventos adversos y neoplasias secundarias (32, 33), sin embargo, tras experiencias del uso de hidroxiurea por más de 20 años en pacientes pediátricos con anemia falciforme, no se ha reportado casos de cáncer inducido por este medicamento (34-36).

Sentado esto, en el tratamiento de las eritrocitosis patológicas en la altura existe un grupo de pacientes mayores a 65 años que presentan comorbilidades cardiopulmonares y metabólicas (37, 38) en los cuales realizar la flebotomía resulta contraindicada debido a que este procedimiento podría empeorar la alteración hemodinámica; por lo que, su manejo debe ser distinto a los protocolos vigentes. De esta manera, el presente documento pretende evidenciar la aplicabilidad de la HU en el tratamiento de pacientes adultos mayores con eritrocitosis secundaria.

PROCEDIMIENTOS

Material y métodos

Se realizó un estudio longitudinal prospectivo que consideró 27 pacientes, 14 mujeres y 13 varones, con promedio de edad de 69 años y diagnóstico de eritrocitosis secundaria a patología cardiopulmonar (4 fibrosis pulmonar y 23 EPOC) contraindicados para flebotomías, todos ellos residentes en las ciudades de La Paz y El Alto a 3.600 y 4.000 m s. n. m. respectivamente. Datos clínicos y familiares fueron extractados de la historia médica de cada paciente.

Estudios clínicos y laboratoriales

Los pacientes fueron diagnosticados de acuerdo a criterios establecidos (29, 39) tras realizar estudios de laboratorio (hemograma, glucemia, ácido úrico, creatinina, bilirrubinas, transaminasas, lactato deshidrogenasa, reticulocitos) y estudios de gabinete (Rx de tórax). Asimismo, el diagnóstico de eventos

trombóticos fue confirmado con Eco Doppler.

Comorbilidades como hipertensión arterial sistémica (n= 7), obesidad grado II (n=8) y evento trombótico (n=1) fueron identificadas en 16 pacientes, otros datos extractados de las historias clínicas se describen en la Cuadro 1.

Cuadro 1. Características clínicas de los pacientes

Número de pacientes	27
Género F/M (n)	14/13
Edad en años (<i>media ± DS</i>)	69 ± 11.8
Eritropoyetina, mUI/ml (<i>media ± DS</i>)	31±18
Diagnóstico	
Fibrosis pulmonar (n)	4
EPOC* (n)	23
Comorbilidad	
HAS** (n)	7
Obesidad > grado 2 (n)	8
Evento trombótico (n)	1

*EPOC: Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica. **HAS: Hipertensión Arterial Sistémica. (n): Número de eventos

Tratamiento y seguimiento de pacientes

Previo consentimiento informado, el tratamiento se inició con hidroxiurea (HU) 500 mg VO 3 veces a la semana (lunes, miércoles y viernes), Atorvastatina (ATV) 20 mg VO día horas 20:00 y ácido acetilsalicílico (ASA) 100 mg VO día en horario de almuerzo. El objetivo fue la remisión de los síntomas de hiperviscosidad sanguínea y la reducción de la concentración de hemoglobina (Hb) por debajo de 18 g/dl. En casos en los que no se llegó al objetivo, la dosis de HU se modificó a 500 mg VO 5 veces a la semana (lunes a viernes); y en casos en los que aun así el objetivo no fue alcanzado, se consideró la dosis de HU 500 mg VO todos los días.

El seguimiento de los pacientes fue realizado mensualmente por consultorio externo, y después de la estabilización fue cada dos meses.

Se monitoreó los posibles eventos adversos en cada uno de los medicamentos. La HU fue monitoreada manteniendo un recuento de neutrófilos mayor a 2.000/ul y de plaquetas mayor a 100.000/ul. La ATV fue monitoreada

Cuadro 2. Evolución de variables clínicas y datos hematológicos de los pacientes durante el tratamiento

Follow-up Nº pacientes	Diagnóstico (27)	Mes 1 (27)	Mes 6 (16)	Mes 12 (11)	Mes 24 (11)	Mes 36 (7)	Mes 48 (3)
Hemoglobina g/dL	20,0 ± 1.3	18,1 ± 1,6	18,7 ± 2,0	18,3 ± 1,4	18,6 ± 1,7	17.9 ± 0.8	18.4 ± 0.9
VCM fl	81 ± 9	83 ± 9	89 ± 6	93 ± 8	90 ± 9	91 ± 8	94 ± 2
Leucocitos /ul	5832 ± 1638	5527±1582	5119±2388	5164±1415	5027±1089	5781±1181	7000±2107
Plaquetas 10 ³ /ul	167 ± 56	163 ± 49	155 ± 37	148 ± 39	147 ± 35	176 ± 35	124 ± 29
Hiperviscosidad Remisión Si/No	0/27	20/7	16/0	11/0	11/0	7/0	3/0
Hemoglobina <18g/dl Si/No	0/27	6/21	9/7	11/0	11/0	7/0	3/0

Los datos están expresados en media aritmética y desviación estándar.

controlando la presencia de dolores musculares y la dosificación de creatinfosfoquinasa (CPK). El ASA fue monitoreada controlando la presencia de sangrados, sobre todo condiciones de epistaxis, gingivorragia o petequias.

RESPUESTA AL TRATAMIENTO

Dosis habitual de HU y frecuencia de administración

La dosis habitual de HU fue 500 mg VO día y la frecuencia de uso fue 7 veces a la semana. De los 27 pacientes tratados, 7 pacientes permanecieron con HU 500 mg 3 veces a la semana, 3 pacientes con HU 500 mg 5 veces a la semana, 16 pacientes con HU 500 mg 7 veces a la semana y solo 1 paciente con HU 1000 mg 7 veces a la semana; en este último la dosis fue aumentada debido a que ni la sintomatología de hiperviscosidad ni los niveles de hemoglobina alcanzaban el objetivo pretendido.

Este esquema de tratamiento, ATV y ASA asociada con HU, permaneció de forma continua; al momento del estudio, se evidenció que 3 pacientes continuaron recibiendo este tratamiento por más de 48 meses.

Remisión de síntomas de hiperviscosidad

Los síntomas de hiperviscosidad sanguínea remitieron desde el primer mes de tratamiento en el 74% de los pacientes y solo el 26 % persistió con síntomas de hiperviscosidad, pero en menor grado que al momento de diagnóstico. Subsiguientemente, al sexto mes de tratamiento, los síntomas de hiperviscosidad remitieron en todos los pacientes, esta remisión persistió de modo continuo hasta el momento del estudio (Cuadro 2).

Disminución de hemoglobina a concentraciones objetivo

La concentración de hemoglobina disminuyó progresivamente hasta alcanzar el objetivo establecido (Hb por debajo de 18 g/dl). Se evidenció que, en el primer mes de tratamiento un 22 % de los pacientes alcanzó el objetivo, al sexto mes fue 56 % y al año de tratamiento el 100 % de los pacientes (Cuadro 2).

Ausencia de eventos adversos

El recuento de leucocitos y plaquetas se mantuvo dentro de los rangos normales, ningún paciente presentó neutrófilos por debajo de 2000/ul, ni plaquetas por debajo de 100.000/ul (Cuadro 2). Así mismo, ningún paciente tuvo eventos colaterales a ATV y ASA.

CONCLUSIONES

El tratamiento de la eritrocitosis en habitantes a grandes alturas requiere considerar elementos tales como la caracterización de las distintas eritrocitosis patológicas en la altura ^(17, 18), sus criterios de diagnóstico ⁽²⁰⁾ y protocolos de tratamiento ^(19, 21), esta última implicando ajustes y adaptaciones según las características de los pacientes. En este estudio, el protocolo planteado para el tratamiento de pacientes adultos mayores de 65 años con eritrocitosis secundaria a patología cardiopulmonar, con contraindicación para flebotomía, considera el empleo de ATV y ASA asociada a bajas dosis de HU.

La atorvastatina (ATV) es uno de los medicamentos más usados en la práctica clínica ⁽⁴⁰⁾, sus efectos pleiotrópicos benefician a pacientes con diagnósticos como eritrocitosis patológica, Hipertensión Arterial Pulmonar (HAP) ^(21, 22) y tromboembolismo ⁽²³⁾. Estudios in vitro e in vivo de los efectos de las estatinas como antitrombóticos, antiproliferativos y proapoptóticos muestran los beneficios clínicos en pacientes con Eritrocitosis Secundaria ^(31, 41). La ATV también disminuye los daños pulmonares producidos por HAP por medio de la inhibición de mecanismos antiinflamatorios ^(23, 24) y mecanismos de señalización de RhoA/Rho quinasa (ROCK) ⁽⁴²⁻⁴⁴⁾. Igualmente, las acciones pleiotrópicas de ATV tienen un rol importante en la prevención de trombosis venosa profunda y el síndrome post-trombótico, sobre todo en pacientes sin terapia de anticoagulación o sin terapia de antiagregantes plaquetarios ⁽²¹⁾. Finalmente, la ATV puede actuar como activador de la telomerasa y, potencialmente como geroprotector efectivo beneficiando a pacientes adultos mayores ⁽⁴⁵⁾.

Seguidamente, el ácido acetilsalicílico (ASA) forma parte del protocolo de tratamiento de la policitemia vera ⁽⁴⁶⁾, sin embargo, también se ha evidenciado su utilidad en el tratamiento de la trombocitosis esencial ⁽⁴⁷⁾ y las eritrocitosis patológicas. En dosis bajas, el ASA funciona

como antiagregante plaquetario e inhibidor de la eritropoiesis suscitando un efecto antiproliferativo en los eritrocitos que resulta beneficioso para la prevención de eventos trombóticos ⁽⁴⁸⁾, estos datos son corroborados por reportes de otros grupos de estudio que mostraron el efecto supresor de ASA inyectando 3 dosis de 5 mg de ASA a intervalos de 4 horas en ratones normales evidenciando una depresión de la eritropoiesis en 35 % ⁽⁴⁹⁾. De este modo, el ASA es de utilidad en pacientes con Eritrocitosis Secundaria donde los eventos trombóticos, entre otras sintomatologías, están incrementados en relación a otros tipos de eritrocitosis ^(17, 50, 51). Adicionalmente, estudios recientes han evidenciado sobre la acción de ASA como inhibidor en NFkB1 disminuyendo la eritropoyesis a través de la inhibición del HIF 1a ^(26, 27, 52).

Ahora bien, la hidroxiurea (HU) ha sido empleada no solo en el tratamiento de la policitemia vera, sino también en enfermedades no neoplásicas como el síndrome de activación mastocitaria ⁽¹¹⁾, anemia falciforme ^(12, 13) y eritrocitosis secundaria a cardiopatías congénitas ⁽¹⁴⁻¹⁶⁾. Se puede observar que la HU influye en varios factores críticos contribuyendo a la reducción de la hiperviscosidad y la reología de la sangre, incluidos el hematocrito, hemoglobina, recuento y morfología de los eritrocitos ⁽⁵³⁻⁵⁵⁾. También se puede valorar el efecto mielosupresor de HU en bajas dosis para disminuir suficientemente la hemoglobina, hematocrito y disminuir la sintomatología por hiperviscosidad sanguínea, además evitar la leucopenia o trombocitopenia.

El empleo de 500 mg VO de HU en los pacientes tratados de este estudio permitió disminuir la concentración de la hemoglobina a niveles objetivo (Hb<18 g/dl) desde el primer mes de tratamiento, un elemento importante considerando que una concentración de hemoglobina menor a 18 g/dl reduce directamente la viscosidad de la sangre, mejora la perfusión y el suministro de oxígeno a los tejidos ⁽⁵⁶⁾.

En relación con los posibles eventos adversos,

se ha reportado probable leucemogenicidad de HU en la Policitemia Vera que va desde la inexistencia hasta un 11,5 % después de 10 años de exposición, sin verdadero riesgo definido ⁽⁵⁷⁾; no obstante, la comparación de los efectos de HU en una neoplasia mieloproliferativa frente a enfermedades no neoplásicas puede no ser apropiada.

Reportes de estudios realizados en pacientes pediátricos que recibieron HU por enfermedad cardíaca congénita ^(15, 16) evidenciaron que la terapia con HU no produjo complicaciones graves, ninguno desarrolló neutropenia grave ni trombocitopenia sintomática y que la reducción de la dosis revirtió rápidamente cualquier mielosupresión leve. Asimismo, otros reportes dan cuenta de más de 14 años de experiencia en el uso a largo plazo de HU en la anemia de células falciformes donde algunos informan sobre efectos secundarios infrecuentes como cambios en la piel y uñas o formación de úlceras en las piernas ^(58, 59), pero hasta la fecha ningún aumento del riesgo de malignidad se ha demostrado ⁽⁶⁰⁻⁶²⁾. Incluso, en un estudio recientemente publicado, se reportó que el tratamiento con hidroxiurea podría no ser contraindicada durante la lactancia ⁽⁶³⁾.

Evaluar el riesgo de desarrollo de mutagénesis de la HU en una condición no maligna como la eritrocitosis secundaria es inconsistente considerando un período de tratamiento relativamente corto, tal el caso de este estudio con un *follow-up* máximo de 4 años y baja dosificación del fármaco. En relación a la presencia efectos secundarios, en este estudio no se observó la presencia de los mismos, pero se considera relevante continuar el monitoreo para conocer el potencial de aparición de estos efectos en pacientes sin enfermedades oncohematológicas.

Otro punto importante que converge en este estudio es la evaluación y el tratamiento de la deficiencia de hierro concurrente, un factor importante en los pacientes con Eritrocitosis Secundaria considerando que las flebotomías repetidas conducen a una deficiencia de hierro,

afectan negativamente en la eritropoyesis y conllevan a producir microcitosis ⁽⁶⁴⁾. Se ha reconocido la rigidez relativa de los glóbulos rojos deficientes en hierro ⁽⁶⁵⁻⁶⁷⁾ y se considera un peligro significativo por flebotomía excesiva en este contexto clínico. Incluso en un hematocrito relativamente normal los eritrocitos con microcitosis pueden aumentar dramáticamente la viscosidad sanguínea y conducir a un desplazamiento hacia la derecha la curva de disociación de la oxihemoglobina ⁽⁶⁸⁾; por lo que, será importante considerar que sin una corrección diligente de la deficiencia de hierro la terapia con hidroxiurea puede no ser eficiente.

Aun así, la hidroxiurea proporciona dos efectos beneficiosos en el contexto de las eritrocitosis secundarias en adultos mayores contraindicados para flebotomía: la disminución del número de eritrocitos a través de la mielosupresión y el cambio en la morfología al inducir macrocitos con un aumento de VCM. Ambos efectos juntos conducen a una reducción de los síntomas de hiperviscosidad. Asimismo, estos efectos beneficiosos de la terapia con hidroxiurea también evitarían los riesgos de agotamiento del hierro que se producen en los casos con flebotomías recurrentes. La evidencia de toxicidad mínima en este y en reportes de otros grupos de estudio sugiere que la HU puede ser una alternativa terapéutica adecuada y segura.

En conclusión, el uso de la HU puede ser de utilidad en el tratamiento de las eritrocitosis secundarias de difícil manejo que involucran contraindicaciones para la flebotomía además del estado general malo de los pacientes, esto referido a la importante morbilidad asociada a eritrocitosis secundaria en pacientes adultos mayores con patología cardiopulmonar. Estudios prospectivos posteriores deben considerar una cohorte más grande de pacientes con eritrocitosis secundaria, particularmente un seguimiento de mayor alcance justificable para evaluar los riesgos y beneficios a largo plazo de esta novedosa intervención terapéutica.

Referencias

1. Cipriani P, Ruscitti P, Carubbi F, Liakouli V, Giacomelli R. Methotrexate in rheumatoid arthritis: optimizing therapy among different formulations. *Current and emerging paradigms. Clinical therapeutics*. 2014;36(3):427-35.
2. Mouterde G, Baillet A, Gaujoux-Viala C, Cantagrel A, Wendling D, Le Loët X, et al. Optimizing methotrexate therapy in rheumatoid arthritis: a systematic literature review. *Joint Bone Spine*. 2011;78(6):587-92.
3. Bagust A, Boland A, Hockenhull J, Fleeman N, Greenhalgh J, Dundar Y, et al. Rituximab for the treatment of rheumatoid arthritis. *Health Technol Assess*. 2009;13(Suppl 2):23-9.
4. Mena-Vázquez N, Manrique-Arija S, Ureña-Garnica I, Romero-Barco CM, Jiménez-Núñez FG, Coret V, et al. Efficiency of different doses of rituximab in rheumatoid arthritis. *Reumatología Clínica (English Edition)*. 2016;12(3):139-45.
5. Jiménez AT, Vallejo ES, Cruz MZ, Cruz AC, Jara BS. Macrophage activation syndrome as the initial manifestation of severe juvenile onset systemic lupus erythematosus. Favorable response to cyclophosphamide. *Reumatología Clínica (English Edition)*. 2014;10(5):331-5.
6. Ruiz-Irastorza G, Danza A, Khamashta M. Treatment of systemic lupus erythematosus: myths, certainties and doubts. *Medicina clinica*. 2013;141(12):533-42.
7. Fishbein WN, Carbone PP. Hydroxyurea: mechanism of action. *Science*. 1963;142(3595):1069-70.
8. Yarbro JW, editor Mechanism of action of hydroxyurea. *Seminars in oncology*; 1992.
9. Maffioli M, Mora B, Passamonti F. Polycythemia vera: from new, modified diagnostic criteria to new therapeutic approaches. *Clin Adv Hematol Oncol*. 2017;15(9):700-7.
10. Tefferi A, Barbui T. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2017 update on diagnosis, risk-stratification, and management. *American journal of hematology*. 2017;92(1):94-108.
11. Afrin LB. Utility of hydroxyurea in mast cell activation syndrome. *Experimental hematology & oncology*. 2013;2(1):28.
12. Cabana MD, Kanter J, Marsh AM, Treadwell MJ, Rowland M, Stemmler P, et al. Barriers to Pediatric sickle cell disease guideline recommendations. *Global pediatric health*. 2019;6:2333794X19847026.
13. McGann PT, Ware RE. Hydroxyurea therapy for sickle cell anemia. *Expert opinion on drug safety*. 2015;14(11):1749-58.
14. Reiss UM, Bensimhon P, Zimmerman SA, Ware RE. Hydroxyurea therapy for management of secondary erythrocytosis in cyanotic congenital heart disease. *American journal of hematology*. 2007;82(8):740-3.
15. Cornu P. Long-term hematological management of cyanotic congenital heart diseases. *Archives des maladies du coeur et des vaisseaux*. 1994;87(11):1413-20.
16. Triadou P, Maier-Redelsperger M, Krishnamoorthy R, Deschamps A, Casadevall N, Dunda O, et al. Fetal haemoglobin variations following hydroxyurea treatment in patients with cyanotic congenital heart disease. *Nouvelle revue française d'hématologie*. 1994;36(5):367-72.
17. Amaru R, Quispe T, Torres G, Mamani J, Aguilar M, Miguez H, et al. Caracterización clínica de la eritrocitosis patológica de altura. *Revista de Hematología*. 2016;17(1):8-20.
18. Moore LG. Human genetic adaptation to high altitude. *High altitude medicine & biology*. 2001;2(2):257-79.
19. Amaru R, Villarroel M, Miguez H, Peñaloza R, Torres G, Barbui T, et al. Hematopoietic Progenitor Cells From Patients with Chronic Mountain Sickness Lack the JAK2V617F Mutation, Show Hypersensitivity to Erythropoietin and Are Inhibited by Statins. *American Society of Hematology*; 2009.
20. Amaru Lucana R, Vera Carrasco O. Guía para el diagnóstico y tratamiento de las eritrocitosis patológicas en la altura. *Revista Médica La Paz*. 2016;22(2):70-7.
21. Amaru R, Vera O, Miguez H, Peñaloza R, Torres G, Velarde J, et al. Mecanismo molecular de las Estatinas en el tratamiento de la Eritrocitosis Patológica de altura. *Revista Médica La Paz*. 2013;19(2):19-27.
22. Brinkkoetter PT, Gottmann U, Schulte J, Van Der Woude F, Braun C, Yard B. Atorvastatin interferes with activation of human CD4+ T cells via inhibition of small guanosine triphosphatase (GTPase) activity and caspase-independent apoptosis. *Clinical & Experimental Immunology*. 2006;146(3):524-32.
23. Lassila R, Jula A, Pitkaniemi J, Haukka J. The association of statin use with reduced incidence of venous thromboembolism: a population-based cohort study. *BMJ open*. 2014;4(11):e005862.
24. Kozarov E, Padro T, Badimon L. View of statins as antimicrobials in cardiovascular risk modification. *Cardiovascular research*. 2014;102(3):362-74.
25. Tafani M, Pucci B, Russo A, Schito L, Pellegrini L, Perrone GA, et al. Modulators of HIF1 α and NF κ B in cancer treatment: is it a rational approach for controlling malignant progression? *Frontiers in pharmacology*. 2013;4:13.

26. Zhang M-Y, Sun S-C, Bell L, Miller BA. NF- κ B transcription factors are involved in normal erythropoiesis. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 1998;91(11):4136-44.
27. Van Uden P, Kenneth NS, Rocha S. Regulation of hypoxia-inducible factor-1 α by NF- κ B. *Biochemical Journal*. 2008;412(3):477-84.
28. Görlach A, Bonello S. The cross-talk between NF- κ B and HIF-1: further evidence for a significant liaison. *Biochemical Journal*. 2008;412(3):e17-e9.
29. Chávez Canaviri AM, Mamani P, Phillco Lima P. Prevalencia de síndrome metabólico y factores asociados en personal de salud dependiente del gobierno municipal de la ciudad de El Alto (4050 msnm), 2013. *Revista Médica La Paz*. 2016;22(1):27-35.
30. Amaru R, Amaru A, Miguez H, Torres G, Mamani J, Aguilar M, et al. Successful Treatment of HU-Refractory Polycythemia Vera with Atorvastatin and Low Dose Hydroxyurea. Results from a Pilot Study in Bolivia. *American Society of Hematology Washington, DC*; 2015.
31. Hasselbalch HC, Riley CH. Statins in the treatment of polycythaemia vera and allied disorders: an antithrombotic and cytoreductive potential? *Leukemia research*. 2006;30(10):1217-25.
32. Chaine B, Neonato M-G, Girot R, Aractingi S. Cutaneous adverse reactions to hydroxyurea in patients with sickle cell disease. *Archives of dermatology*. 2001;137(4):467-70.
33. Kattamis A, Lagona E, Orfanou I, Psichou F, Ladis V, Kanavakis E, et al. Clinical response and adverse events in young patients with sickle cell disease treated with hydroxyurea. *Pediatric hematology and oncology*. 2004;21(4):335-42.
34. Brousseau DC, Richardson T, Hall M, Ellison AM, Shah SS, Raphael JL, et al. Hydroxyurea use for sickle cell disease among medicaid-enrolled children. *Pediatrics*. 2019;144(1):e20183285.
35. Thomas R, Dulman R, Lewis A, Notarangelo B, Yang E. Prospective longitudinal follow-up of children with sickle cell disease treated with hydroxyurea since infancy. *Pediatric blood & cancer*. 2019;66(9):e27816.
36. Kinney TR, Helms RW, O'Branski EE, Ohene-Frempong K, Wang W, Daeschner C, et al. Safety of hydroxyurea in children with sickle cell anemia: results of the HUG-KIDS study, a phase I/II trial. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 1999;94(5):1550-4.
37. Guzmán Guzmán RE. EPOC en el adulto mayor: control de síntomas en consulta del Médico de Familia. *Revista Clínica de Medicina de Familia*. 2008;2(5):244-9.
38. Díaz Lazo A. Cor pulmonale crónico: aspectos clínicos epidemiológicos en adultos de altura 2000-2006. *Rev peru cardiol(Lima)*. 2009;35(1):44-52.
39. Finazzi G, Gregg XT, Barbui T, Prchal JT. Idiopathic erythrocytosis and other non-clonal polycythemia. *Best Practice & Research Clinical Haematology*. 2006;19(3):471-82.
40. Soto Hernández KA, Loza Escutia O, García Mendoza N, Rodríguez Galván KG, Sánchez-Reyes L, Fanghanel Salmón G. Estatinas en adultos mayores, una población creciente. *Revista de la Facultad de Medicina (México)*. 2013;56(1):19-29.
41. Gazzo P, Proto MC, Gangemi G, Malfitano AM, Ciaglia E, Pisanti S, et al. Pharmacological actions of statins: a critical appraisal in the management of cancer. *Pharmacological reviews*. 2012;64(1):102-46.
42. Girgis RE, Mozammel S, Champion HC, Li D, Peng X, Shimoda L, et al. Regression of chronic hypoxic pulmonary hypertension by simvastatin. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*. 2007;292(5):L1105-L110.
43. Oka M, Fagan K, Jones P, McMurtry I. Therapeutic potential of RhoA/Rho kinase inhibitors in pulmonary hypertension. *British journal of pharmacology*. 2008;155(4):444-54.
44. Wilkins MR, Ali O, Bradlow W, Wharton J, Taegtmeyer A, Rhodes CJ, et al. Simvastatin as a treatment for pulmonary hypertension trial. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2010;181(10):1106-13.
45. Strazhesko ID, Tkacheva ON, Akasheva DU, Dudinskaya EN, Plokhova EV, Pykhina VS, et al. Atorvastatin therapy modulates telomerase activity in patients free of atherosclerotic cardiovascular diseases. *Frontiers in pharmacology*. 2016;7:347.
46. Landolfi R, Marchioli R, Kutti J, Gisslinger H, Tognoni G, Patrono C, et al. Efficacy and safety of low-dose aspirin in polycythemia vera. *New England Journal of Medicine*. 2004;350(2):114-24.
47. Randi ML, Rossi C, Fabris F, Menapace L, Girolami A. State-of-the-Art Review: Aspirin Seems as Effective as Myelosuppressive Agents in the Prevention of Rethrombosis in Essential Thrombocythemia. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. 1999;5(2):131-5.
48. Alvarez-Larrán A, Besses C. Antiplatelet therapy in the management of myeloproliferative neoplasms. *Current hematologic malignancy reports*. 2014;9(4):319-23.

49. Giglio M, Santoro R, Bozzini C. Suppressive effect of acetylsalicylic acid on erythropoietin-responsive cells in mice. *Acta physiologica et pharmacologica latinoamericana: organo de la Asociacion Latinoamericana de Ciencias Fisiologicas y de la Asociacion Latinoamericana de Farmacologia*. 1984;34(3):229-34.
50. Limmroth V, Katsarava Z, Diener HC. Acetylsalicylic acid in the treatment of headache. *Cephalalgia*. 1999;19(6):545-51.
51. Randjelović P, Veljković S, Stojiljković N, Sokolović D, Ilić I, Laketić D, et al. The beneficial biological properties of salicylic acid. *Acta facultatis medicae Naissensis*. 2015;32(4):259-65.
52. Canaviri C, María A, Mamani P, Phillco Lima P. Prevalencia de síndrome metabólico y factores asociados en personal de salud dependiente del gobierno municipal de la ciudad de El Alto (4050 msnm), 2013. *Revista Médica La Paz*. 2016;22(1):27-35.
53. Burns ER, Reed LJ, Wenz B. Volumetric erythrocyte macrocytosis induced by hydroxyurea. *American journal of clinical pathology*. 1986;85(3):337-41.
54. Stevens M. Hydroxyurea: an overview. *Journal of biological regulators and homeostatic agents*. 1999;13(3):172-5.
55. Ballas SK, Dover GJ, Charache S. Effect of hydroxyurea on the rheological properties of sickle erythrocytes in vivo. *American journal of hematology*. 1989;32(2):104-11.
56. Kontras SB, Bodenberder JG, Craenen J, Hosier D. Hyperviscosity in congenital heart disease. *The Journal of pediatrics*. 1970;76(2):214-20.
57. Silver RT, editor *Treatment of polycythemia vera. Seminars in thrombosis and hemostasis*; 2006: Copyright© 2006 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New
58. O'Branski EE, Ware RE, Prose NS, Kinney TR. Skin and nail changes in children with sickle cell anemia receiving hydroxyurea therapy. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2001;44(5):859-61.
59. Kersgard C, Osswald MB. Hydroxyurea and sickle cell leg ulcers. *American journal of hematology*. 2001;68(3):215-6.
60. Hankins JS, Ware RE, Rogers ZR, Wynn LW, Lane PA, Scott JP, et al. Long-term hydroxyurea therapy for infants with sickle cell anemia: the HUSOFT extension study. *Blood*. 2005;106(7):2269-75.
61. Steinberg MH, Barton F, Castro O, Pegelow CH, Ballas SK, Kutlar A, et al. Effect of hydroxyurea on mortality and morbidity in adult sickle cell anemia: risks and benefits up to 9 years of treatment. *Jama*. 2003;289(13):1645-51.
62. Zimmerman SA, Schultz WH, Davis JS, Pickens CV, Mortier NA, Howard TA, et al. Sustained long-term hematologic efficacy of hydroxyurea at maximum tolerated dose in children with sickle cell disease. *Blood*. 2004;103(6):2039-45.
63. Ware RE, Marahatta A, Ware JL, McElhinney K, Dong M, Vinks AA. Hydroxyurea Exposure in Lactation: a Pharmacokinetics Study (HELPS). *The Journal of Pediatrics*. 2020.
64. Cortés A, Jiménez ML, Fajardo A, Valencia G, Marín MC, Sandoval N. Deficiencia de hierro en donantes de sangre. *Colombia Médica*. 2005;36(1):34-9.
65. Yip R, Mohandas N, Clark MR, Jain S, Shohet SB, Dallman PR. Red cell membrane stiffness in iron deficiency. 1983.
66. Broberg CS, Bax BE, Okonko DO, Rampling MW, Bayne S, Harries C, et al. Blood viscosity and its relationship to iron deficiency, symptoms, and exercise capacity in adults with cyanotic congenital heart disease. *Journal of the American College of Cardiology*. 2006;48(2):356-65.
67. Brandao MM, Castro MdLR, Fontes A, Cesar CL, Costa FF, Saad ST. Impaired red cell deformability in iron deficient subjects. *Clinical hemorheology and microcirculation*. 2009;43(3):217-21.
68. Kanjaksha G. Practitioners section-Non haematological effects of iron deficiency-A perspective. *Indian journal of medical sciences*. 2006;60(1):30-7.

TRATAMIENTO DE LA POLICITEMIA VERA CON ATORVASTATINA, ASPIRINA Y DOSIS BAJAS DE HIDROXIUREA

Amaru Ricardo, Velarde Jeaneth, Mamani Reyna, Patón Daniela, Quispe Teddy, Amaru Ariel.

Unidad de Biología Celular, Facultad de Medicina, UMSA, La Paz, Bolivia.

Instituto Boliviano de Oncohematología 'Paolo Belli', La Paz, Bolivia.

INTRODUCCIÓN

La Policitemia Vera (PV) es una neoplasia mieloproliferativa clonal caracterizada por la mutación del gen $JAK2^{V617F}$ de más del 95 %. Esta neoplasia tiene una supervivencia global de 13 a 15 años⁽¹⁾, empero tomando en cuenta la estratificación de riesgo, la supervivencia global es de 10,9 años en la PV de riesgo alto, 18,9 en PV de riesgo intermedio y 27,8 en PV de riesgo bajo⁽²⁾. Los objetivos principales de las terapias actuales para tratar la PV residen en prevenir los eventos trombóticos y retrasar la transformación a mielofibrosis (MF) o leucemia mieloide aguda (LMA).

El tratamiento de la PV, cuya finalidad es mantener concentraciones de hematocrito (Hct) y hemoglobina (Hb) dentro de los valores normales, ha sido asociado a una reducción de las muertes por patologías cardiovasculares y eventos trombóticos⁽³⁾. Actualmente, los pacientes con PV de riesgo bajo (<60 años y sin eventos trombóticos previos) son tratados con ácido acetilsalicílico y flebotomías; mientras que, los pacientes de riesgo alto requieren una terapia citorreductora adicional, generalmente con interferón alfa o ruxolitinib⁽⁴⁻⁶⁾. Sin embargo, en América Latina, en países de bajos y medianos ingresos, los pacientes con PV de riesgo alto tienen dificultades para obtener un tratamiento debido al alto costo y la disponibilidad de medicamentos, esto hace necesario considerar y optimizar los recursos existentes para proporcionar protocolos de tratamiento más accesibles pero adecuados y efectivos.

La hidroxiurea (HU) es un fármaco citorreductor ampliamente conocido en el tratamiento de la policitemia vera^(7, 8). Seguidamente, el ácido acetilsalicílico (ASA), parte del protocolo de tratamiento en la PV, actúa como un antiagregante plaquetario para prevenir la trombosis y también actúa como un inhibidor de la proteína NF κ B1⁽⁹⁻¹²⁾, un activador del factor inducible por hipoxia (HIF). La regulación negativa de NF κ B1 ocasionada por ASA puede disminuir la eritropoiesis al disminuir HIF-1 α ^(10, 11, 13). La atorvastatina (ATV), por su parte, es un fármaco de uso común en la práctica clínica, tiene efectos pleiotrópicos involucrados en la proliferación y diferenciación eritroide así como en la prevención de eventos trombóticos, también sensibiliza la acción de la hidroxiurea permitiendo usar dosis más bajas de esta última⁽¹⁴⁻¹⁷⁾.

La combinación de los medicamentos mencionados (ATV, ASA y HU) puede ser una alternativa para el tratamiento de la PV de riesgo alto en países de recursos económicos limitados como el nuestro, mejorando la adherencia del tratamiento y la sobrevida de los pacientes a costos reducidos. Es así que, este capítulo desarrolla la aplicabilidad terapéutica del protocolo de tratamiento propuesto para este tipo de pacientes.

PROCEDIMIENTOS

Pacientes

Se realizó un estudio longitudinal prospectivo desde enero de 2008 hasta abril de 2020. De un total de 91 pacientes diagnosticados con Policitemia Vera, 14 pacientes de riesgo alto con mutación $JAK2^{V617F}$ ingresaron en el estudio.

Todos los pacientes tenían radicación en las ciudades de La Paz y el El Alto (>3.600 m s. n. m.), Bolivia, donde las concentraciones normales de hemoglobina (Hb) en sujetos sanos oscilan entre 15 a 18 g/dl para hombres y 14 a 17 g/dl para mujeres⁽¹⁸⁾. Se obtuvieron muestras de sangre venosa periférica y aspirado de médula ósea, también se recolectó datos clínicos y familiares de la historia clínica de los pacientes.

Se realizaron estudios de laboratorio (hemograma, glucemia, ácido úrico, creatinina, bilirrubina, transaminasas, lactato deshidrogenasa y eritropoyetina). El diagnóstico de PV se realizó de acuerdo con los criterios de diagnóstico estándar⁽¹⁹⁾ y la estratificación de riesgo mediante el algoritmo proporcionado por Griesshammer⁽²⁰⁾, el cual define como riesgo alto cuando el paciente tiene una edad mayor a 60 años y ha presentado trombosis previas. Los eventos trombóticos fueron confirmados por Eco-Doppler y Tomografía Axial Computarizada.

Evaluación de la mutación del gen JAK2^{V617F}

La evaluación de la mutación JAK2^{V617F} se realizó mediante un ensayo de PCR (reacción en cadena de la polimerasa) usando 1 *reverse primer* común JAK2-R (5'-CTGAATAGTCCTACAGTGT TTTCAGTTTCA-3') a 50 µM y 2 *forward primers* a 25 µM, uno JAK2 F Mut (5'-AGCATTTGGTT TTAAATTATGGAGTATATT-3') específico para el alelo mutante y otro JAK2-F-WT (5'-ATCTA TAGTCATGCTGAAAGTAGGAGAAAG-3') que amplifica el alelo de tipo salvaje. El ensayo de PCR se realizó a una temperatura de hibridación de 59 °C por 35 ciclos. La amplificación dio como resultado un producto de 203 pb para el alelo mutante y un producto de 364 pb para el alelo de tipo salvaje.^(21, 22)

Ensayos *In-vitro*

Se realizaron ensayos *in vitro* de proliferación de colonias eritroides con y sin simvastatina (3.5 µM) en líneas celulares (UKE1 y K562) y células mononucleares de médula ósea obtenidas de pacientes con PV así como de donantes sanos (Controles Normales) como fue descrito previamente^(21, 22).

Protocolo de tratamiento y seguimiento de los pacientes

Se realizó flebotomías de 450 ml hasta alcanzar concentraciones de Hb <17 g/dl en mujeres y <18 g/dl en los varones.

Posteriormente, previo consentimiento informado, los pacientes recibieron HU 500 mg/día por vía oral, ATV 20 mg/día por vía oral y ASA 100 mg/día por vía oral. El seguimiento de los pacientes se realizó mensualmente por consulta médica ambulatoria.

Los posibles eventos adversos en cada uno de los medicamentos fueron monitoreados, la HU manteniendo un recuento de neutrófilos >2000/ul y un recuento de plaquetas >100.000/ul, la ATV controlando la presencia de dolores musculares y la dosificación de creatinofosfoquinasa (CPK), y en el caso de ASA controlando la presencia de sangrados, especialmente epistaxis, gingivorragia o petequias.

RESULTADOS DE LOS ENSAYOS *IN VITRO*

Inhibición de la proliferación celular

Los estudios *in vitro* realizados en las líneas celulares UKE1 y K562 evidenciaron que las estatinas inhiben la proliferación celular. La simvastatina (3.5 µM), agregada durante 5 días, indujo un 33 % de inhibición en la proliferación celular de UKE-1 (JAK2^{V617F} mutado) en comparación con un 5 % de inhibición en K562 (BCR/ABL positivo) (Figura 1).

Inhibición de colonias BFU-E

Sobre la base de los resultados obtenidos en las líneas celulares, también se realizaron experimentos similares utilizando células mononucleares de médula ósea de pacientes con PV y sujetos sanos como Controles Normales (CN).

Se observó que la adición de simvastatina indujo un 41% de inhibición en colonias BFU-E de pacientes con PV y un 25% de inhibición en los Controles Normales. Además, las colonias BFU-E inhibidas con simvastatina mostraron una disminución en la hemoglobinización y el tamaño de las colonias (Figura 2).

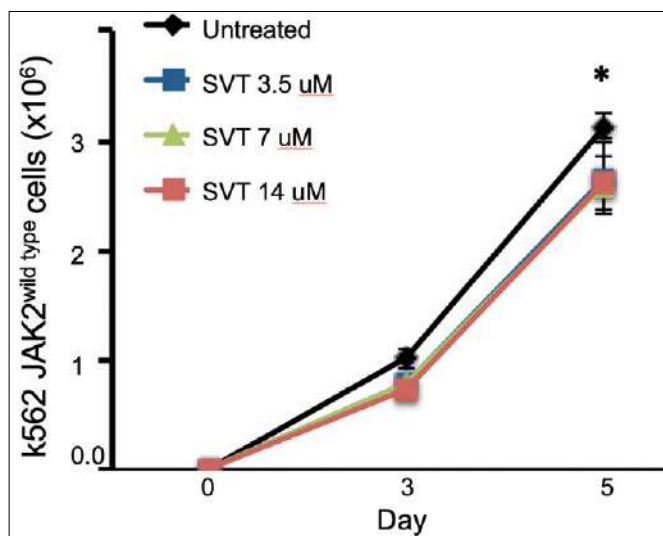
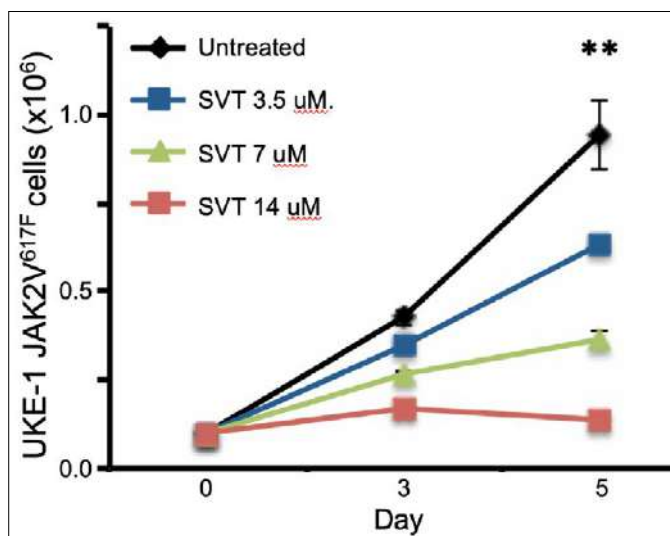


Fig. 1 Inhibición de la proliferación celular en líneas celulares UKE1 y K562. *UKE1*: línea celular homocigota con mutación del gen *JAK2*, obtenida de un paciente con trombocitemia esencial. *K562*: línea celular inmortalizada a partir de leucemia mieloide crónica (*BCR/ABL*) en fase blástica. *STV*: simvastatina (estatina).

RESPUESTA AL TRATAMIENTO

La edad promedio de los pacientes, 7 varones y 7 mujeres, fue de 65 años de edad. De todos ellos, 5 pacientes tenían antecedentes de eventos trombóticos (1 trombosis venosa profunda, 3 trombosis en vena porta, 1 accidente cerebrovascular). También se identificó comorbilidades como diabetes (n=1), dislipidemia (n=1), hipertensión arterial sistémica (n=3), antecedentes de tabaquismo (n=1) y antecedentes de flebotomías previas en casi todos (13 de 14 pacientes). Las características de estos pacientes con PV de riesgo alto tratados con atorvastatina, aspirina y dosis bajas de hidroxiurea están detallados en el Cuadro 1.

Subsecuentemente, se analizó un seguimiento de pacientes comprendido por 13 años, desde los 6 meses hasta los 13 años de tratamiento (Cuadro 2). Características como la progresión de la respuesta y la tolerancia al tratamiento fueron consideradas.

Se pudo evidenciar que, 2 pacientes necesitaron aumentar la dosis de HU a 1000 mg después de 10 años de tratamiento; un paciente de 67 años (follow-up de 10 años) presentó trombosis venosa profunda (TVP) e inició con HU 1000 mg/día seguido de rivaroxaban 20 mg/día, de modo similar, un paciente de 72 años (follow-up de 13 años) presentó leucocitosis (16 900/ul) y comenzó

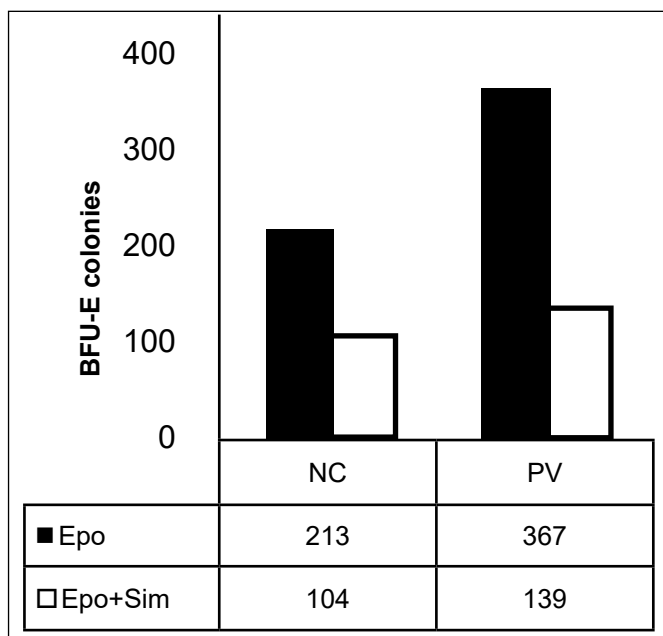


Fig. 2 Inhibición de colonias BFU-E con simvastatina. Cultivo en medio semisólido de metilcelulosa de CPH de médula ósea a diferentes concentraciones de simvastatina. *PV*: pacientes con Policitemia Vera. *NC*: Controles Normales. *Epo*: 2 UI/ml, *Sim*: 3uM

HU 1000 mg. Al momento de la redacción de este documento, se observó que ambos pacientes tenían una buena evolución con *performance status* de 1 y 0 respectivamente.

Cuadro 1. Característica de los pacientes tratados

Sujetos	N=	Edad, años	Hb g/dl	GB /l	PLT /l	ET N°	DM N°	Dislip N°	HAS N°	Tabaco N°	Flebo N°
Varones	7	64 (± 9)	19,1 (± 2,5)	16,2 (± 8,5)	481,9 (± 256,0)	3	0	1	1	1	7
Mujeres	7	63 (± 12)	18,6 (± 2,1)	16,7 (± 6,2)	558,9 (± 205,4)	2	1	0	2	0	6
Total	14	65 (± 10)	19,1 (± 2,2)	16,8 (± 7,4)	707,3 (± 236,7)	5	1	1	3	1	13

Los resultados hematológicos están expresados en media aritmética y los datos en paréntesis expresan la desviación estándar. **Hb**: hemoglobina **GB**: leucocitos **PLT**: plaquetas **ET**: evento trombótico, **DM**: diabetes mellitus, **Dislip**: dislipidemia, **HAS**: hipertensión arterial sistémica, **Tabaco**: tabaquismo, **Flebo**: flebotomías.

Cuadro 2. Seguimiento de los pacientes

Follow-up	N=	HU 500 mg	HU 1000 mg	Hb g/dl	GB /l	PLT /l	ET N°	Flebo N°	Transfor	Muerte
Tiempo 0	14	0	0	19,1 (± 2,2)	16,8 (± 7,4)	707,3 (± 236,7)	0	13	0	0
6 meses	14	14	0	14,7 (± 2,9)	12,4 (± 7,2)	481,9 (± 256,0)	0	1	0	0
1 año	11	11	0	16,2 (± 3,0)	13,8 (± 5,9)	361,9 (± 116,1)	0	2	0	0
2 años	11	11	0	15,5 (± 3,9)	14,1 (± 6,3)	338,5 (± 116,8)	0	2	0	0
5 años	8	8	0	16,1 (± 3,1)	12,9 (± 6,3)	209,9 (± 152,7)	0	1	0	1 ^c
10 años	3	1	2 ^{a,b}	13,4 (± 3,2)	11,5 (± 2,5)	336,7 (± 202,0)	1 ^a (TVP)	0	0	0
13 años	1	0	1	18,1	12,6	353	0	0	0	0

^a Paciente de 67 años que presentó TVP y esplenomegalia subió la dosis de HU a 1000 mg día seguido de rivaroxaban 20 mg día, tuvo una evolución favorable. ^b Paciente de 72 años que presentó leucocitosis (16 900/ul) comenzó HU 1000 mg día con una evolución favorable. ^c Paciente de 65 años con historia de tabaquismo falleció por cáncer de pulmón. **ET**: evento trombótico, **Flebo**: flebotomías, **Transfor**: transformación a mielofibrosis o leucemia.

Un paciente de 65 años (follow-up de 5 años), con historia de tabaquismo, murió por causa de un cáncer de pulmón.

El requerimiento de flebotomías permaneció hasta los 5 años de seguimiento. Ninguno de los pacientes presentó progresión a mielofibrosis o transformación a leucemia. No se observaron eventos adversos graves que requirieran la interrupción del tratamiento, los leucocitos y las plaquetas se mantuvieron dentro de los rangos normales.

CONCLUSIONES

Las estatinas son efectivas para inhibir el crecimiento y la diferenciación de células dependientes de JAK2^{V617F} alterando las balsas lipídicas donde está alojado el gen JAK2⁽¹⁷⁾. El emplear estatinas inhibitoras de la síntesis del colesterol combinadas con el tratamiento con inhibidores de JAK puede proporcionar una estrategia terapéutica más efectiva para pacientes con PV que el utilizar solo los inhibidores de JAK ⁽²³⁾ o solo la hidroxiurea ⁽¹⁴⁾.

La exposición a las estatinas, en los pacientes con Policitemia Vera, reduce hasta un 84 % las probabilidades de necesitar flebotomías, esto probablemente porque las estatinas inhiben la proliferación celular dependiente de vía del gen JAK2⁽¹⁵⁾. Adicionalmente, las estatinas reducen la localización de JAK2 en balsas lipídicas, regulan negativamente la activación de JAK2 / STAT5 e inhiben el crecimiento celular en líneas celulares con JAK2^{V617F} ^(16,17). El rol potencial de las estatinas en el tratamiento de pacientes con PV ha sido confirmado por los hallazgos sobre la capacidad de las estatinas de inhibir la formación de colonias eritroides, contribuyendo a los inhibidores de JAK (JAK1 y JAK2) como el ruxolitinib y a una proliferación celular reducida de células JAK2^{V617F} positivo, lo que por tanto difiere del tratamiento con un solo agente ⁽²⁴⁾.

Asimismo, la acción antitrombótica de las estatinas es importante en la PV donde los riesgos de eventos trombóticos son altos ^(25, 26), es bien reconocido que las estatinas están asociadas con la disminución de eventos trombóticos ⁽²⁷⁾. A este respecto, es probable que el problema trombótico sea mayor en las regiones de gran altitud donde la HIF esta aumentada por la hipoxia y la expresión de varios genes tromboinflamatorios regulados por HIF aumentan el riesgo trombótico ⁽²⁸⁻³⁰⁾. Los pacientes con PV en la altura están expuestos a mayor riesgo de trombosis debido a las concentraciones de Hb por encima de los rangos normales (14 – 17 g/dl en mujeres y 15 - 18 en varones) ^(18, 31, 32).

El ácido acetilsalicílico (ASA), a su vez, es un medicamento antiagregante plaquetario y un inhibidor de NFκB 1 que disminuye la eritropoyesis al inhibir HIF1α ⁽³³⁾. El uso del ASA en el tratamiento de la Policitemia Vera es seguro y ampliamente conocido ^(9, 34).

Al respecto de la hidroxiurea (HU) en la policitemia vera, este fármaco citotóxico ha sido el tratamiento convencional en pacientes con PV de riesgo alto comparado con los nuevos fármacos citorreductores, esto a pesar de que estudios realizados empleando solo HU,

sin combinarla con otros fármacos, presentaron resultados poco alentadores^(1, 35). Por lo general, la HU es bien tolerada, influye en varios factores críticos que contribuyen a la reducción de hiperviscosidad y a la reología de la sangre, incluidos el hematocrito, la hemoglobina y la morfología de los eritrocitos ⁽³⁶⁾.

En nuestro estudio, los pacientes con PV de riesgo alto que recibieron HU (dosis bajas) + ATV + ASA mostraron una buena respuesta y una tolerancia adecuada al tratamiento. Nuestro paciente más antiguo ha recibido tratamiento durante 13 años, seguido de otros pacientes que lo han recibido por 10 años. Solo un paciente presentó evento trombótico después de 10 años de tratamiento. La baja tasa de trombosis en este estudio es especialmente sorprendente debido a un informe de que la gran altitud puede aumentar el riesgo de trombosis en pacientes con PV⁽³⁰⁾. Ninguno de ellos presentó eventos adversos graves a los medicamentos ni transformación a leucemia o mielofibrosis. En este último aspecto, diversos reportes señalan una probable leucemogenicidad de HU en la policitemia vera que va desde la inexistencia hasta un 11,5 % después de 10 años de exposición ⁽³⁷⁻³⁹⁾; sin embargo, recientemente se reportó una tasa de incidencia de transformación leucémica de 0.4% después de 12.4 años de exposición, y esto respalda los resultados obtenidos en nuestro estudio ⁽⁴⁰⁾.

También es relevante valorar características como el uso frecuente, bajo costo y seguridad de estos medicamentos, ya que se convierten en recursos confiables y accesibles para aquellos entornos donde es necesario conciliar la sostenibilidad económica con el derecho a una mejor calidad en salud y vida ⁽⁴⁰⁾. De esta manera, cabe destacar que el tratamiento aplicado en nuestro estudio fue factible de realizarse económicamente, permitiendo así una buena adherencia al mismo.

Estudios posteriores requerirán observar la reducción de la carga alélica para confirmar la efectividad de la hidroxiurea en la reducción de la carga del alelo JAK2^{V617F}, dado que esta no se ha dilucidado del todo⁽⁴¹⁾. Asimismo, el uso de la ATV

podría ser beneficiosa en otras situaciones clínicas de la Policitemia Vera, especialmente en pacientes con resistencia a la hidroxiurea ^(14,42,43) y en pacientes con contraindicaciones para flebotomías ⁽⁴⁴⁾.

En resumen, la hidroxiurea es un fármaco citorreductor reconocido en el tratamiento de la policitemia vera; la atorvastatina es reconocida por su acción potenciadora en la HU, su rol de inhibidor en la proliferación eritroide así como su

efecto antitrombótico; y el ácido acetilsalicílico es útil por su actividad como antiagregante plaquetario, así como por su papel inhibidor en la eritropoyesis a través de la vía NFkB1. Por lo tanto, los pacientes con PV de riesgo alto de países de recursos económicos limitados tienen una alternativa de tratamiento accesible, de bajo costo y efectiva con HU, ATV y ASA.

Referencias

1. Tefferi A, Guglielmelli P, Larson DR, Finke C, Wassie EA, Pieri L, et al. Long-term survival and blast transformation in molecularly annotated essential thrombocythemia, polycythemia vera, and myelofibrosis. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2014;124(16):2507-13.
2. Tefferi A, Rumi E, Finazzi G, Gisslinger H, Vannucchi A, Rodeghiero F, et al. Survival and prognosis among 1545 patients with contemporary polycythemia vera: an international study. *Leukemia*. 2013;27(9):1874-81.
3. Marchioli R, Vannucchi AM, Barbui T. Treatment target in polycythemia vera. *The New England journal of medicine*. 2013;368(16):1556.
4. Tremblay D, Mascarenhas J. Novel Therapies in Polycythemia Vera. *Current Hematologic Malignancy Reports*. 2020:1-8.
5. Vannucchi AM, Kiladjian JJ, Griesshammer M, Masszi T, Durrant S, Passamonti F, et al. Ruxolitinib versus standard therapy for the treatment of polycythemia vera. *New England Journal of Medicine*. 2015;372(5):426-35.
6. Verstovsek S, Passamonti F, Rambaldi A, Barosi G, Rosen PJ, Rumi E, et al. A phase 2 study of ruxolitinib, an oral JAK1 and JAK2 inhibitor, in patients with advanced polycythemia vera who are refractory or intolerant to hydroxyurea. *Cancer*. 2014;120(4):513-20.
7. Barbui T, Vannucchi AM, Finazzi G, Finazzi MC, Masciulli A, Carobbio A, et al. A reappraisal of the benefit-risk profile of hydroxyurea in polycythemia vera: A propensity-matched study. *American journal of hematology*. 2017;92(11):1131-6.
8. Barbui T, Finazzi G, editors. *Therapy for polycythemia vera and essential thrombocythemia is driven by the cardiovascular risk*. Seminars in thrombosis and hemostasis; 2007: Copyright© 2007 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New York.
9. Landolfi R, Marchioli R, Kutti J, Gisslinger H, Tognoni G, Patrono C, et al. Efficacy and safety of low-dose aspirin in polycythemia vera. *New England Journal of Medicine*. 2004;350(2):114-24.
10. Shi C, Zhang N, Feng Y, Cao J, Chen X, Liu B. Aspirin inhibits IKK- β -mediated prostate cancer cell invasion by targeting matrix metalloproteinase-9 and urokinase-type plasminogen activator. *Cellular Physiology and Biochemistry*. 2017;41(4):1313-24.
11. Jancso G, Cserepes B, Gasz B, Benko L, Ferencz A, Borsiczky B, et al. Effect of Acetylsalicylic Acid on Nuclear Factor- κ B Activation and on Late Preconditioning Against Infarction in the Myocardium. *Journal of cardiovascular pharmacology*. 2005;46(3):295-301.
12. Wang L, Ying R, Jiang H, Jin Q, Kuang J, Zhang Z, et al. Aspirin modulates the inflammatory response in a thrombus-stimulated LMVEC model. *International journal of molecular medicine*. 2018;41(6):3253-66.
13. Chen J, Xu R, Xia J, Huang J, Su B, Wang S. Aspirin inhibits hypoxia-mediated lung cancer cell stemness and exosome function. *Pathology-Research and Practice*. 2019;215(6):152379.
14. Amaru R, Amaru A, Miguez H, Torres G, Mamani J, Aguilar M, et al. Successful Treatment of HU-Refractory Polycythemia Vera with Atorvastatin and Low Dose Hydroxyurea. Results from a Pilot Study in Bolivia. *American Society of Hematology Washington, DC*; 2015.
15. Krečak I, Holik H, Morić-Perić M, Zekanović I, Coha B, Gverić-Krečak V. The impact of statins on the intensity of phlebotomies in polycythemia vera. *Annals of Hematology*. 2020:1-2.
16. Hasselbalch HC, Riley CH. Statins in the treatment of polycythaemia vera and allied disorders: an antithrombotic

- and cyto-reductive potential? *Leukemia research*. 2006;30(10):1217-25.
17. Griner LN, McGraw KL, Johnson JO, List AF, Reuther GW. JAK 2-V 617 F-mediated signalling is dependent on lipid rafts and statins inhibit JAK 2-V 617 F-dependent cell growth. *British journal of haematology*. 2013;160(2):177-87.
 18. Amaru R, Quispe T, Torres G, Mamani J, Aguilar M, Miguez H, et al. Caracterización clínica de la eritrocitosis patológica de altura. *Revista de Hematología*. 2016;17(1):8-20.
 19. Marchioli R, Finazzi G, Specchia G, Cacciola R, Cavazzina R, Cilloni D, et al. Cardiovascular events and intensity of treatment in polycythemia vera. *N Engl J Med*. 2013;368:22-33.
 20. Griesshammer M, Gisslinger H, Mesa R. Current and future treatment options for polycythemia vera. *Annals of hematology*. 2015;94(6):901-10.
 21. Guerini V, Barbui V, Spinelli O, Salvi A, Dellacasa C, Carobbio A, et al. The histone deacetylase inhibitor ITF2357 selectively targets cells bearing mutated JAK2 V617F. *Leukemia*. 2008;22(4):740-7.
 22. Calzada AA, Pedrini O, Finazzi G, Leoni F, Mascagni P, Intronà M, et al. Givinostat and hydroxyurea synergize in vitro to induce apoptosis of cells from JAK2V617F myeloproliferative neoplasm patients. *Experimental hematology*. 2013;41(3):253-60. e2.
 23. Griner LN, McGraw KL, Johnson JO, List AF, Reuther GW. A Mechanistic Rationale for the Use of Statins to Enhance JAK Inhibitor Therapy in MPNs. *Blood*. 2011;118(21):2816-.
 24. Hasselbalch HC. Perspectives on chronic inflammation in essential thrombocythemia, polycythemia vera, and myelofibrosis: is chronic inflammation a trigger and driver of clonal evolution and development of accelerated atherosclerosis and second cancer? *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2012;119(14):3219-25.
 25. Gordeuk VR, Key NS, Prchal JT. Re-evaluation of hematocrit as a determinant of thrombotic risk in erythrocytosis. *haematologica*. 2019;104(4):653-8.
 26. Flores F, Eaglstein WA, Kirsner RS. Hydroxyurea-induced leg ulcers treated with Apligraf. *Annals of internal medicine*. 2000;132(5):417-8.
 27. Podoltsev N, Zhu M, Wang R, Zeidan AM, Wang X, Davidoff AJ, et al. Use of Statins, Survival and Incidence of Thrombosis Among Older Adults with Polycythemia Vera: A Population-Based Study. *Blood*. 2018;132(Supplement 1):3580-.
 28. Gangaraju R, Song J, Kim SJ, Tashi T, Reeves BN, Sundar KM, et al. Thrombotic, inflammatory, and HIF-regulated genes and thrombosis risk in polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Blood Advances*. 2020;4(6):1115-30.
 29. Prchal JT. Hypoxia and thrombosis. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2018;132(4):348-9.
 30. Zangari M, Tolomelli G, Lee JC, Stein BL, Hickman K, Swierczek S, et al. Could hypoxia increase the prevalence of thrombotic complications in polycythemia vera? *Blood coagulation & fibrinolysis: an international journal in haemostasis and thrombosis*. 2013;24(3):311.
 31. Folsom AR, Wang W, Parikh R, Lutsey PL, Beckman JD, Cushman M, et al. Hematocrit and incidence of venous thromboembolism. *Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis*. 2020.
 32. Hultcrantz M, Modlitba A, Vasan SK, Sjölander A, Rostgaard K, Landgren O, et al. Hemoglobin concentration and risk of arterial and venous thrombosis in 1.5 million Swedish and Danish blood donors. *Thrombosis Research*. 2020;186:86-92.
 33. Ditsworth D, Zong W-X. NF-kappaB: key mediator of inflammation-associated cancer. *Cancer biology & therapy*. 2004;3(12):1214-6.
 34. Zwicker JJ, Lessen DS, Colucci P, Paranagama D, Grunwald MR. Risk of Hemorrhage in Patients with Polycythemia Vera Exposed to Aspirin in Combination with Anticoagulants: Results of a Prospective, Multicenter, Observational Cohort Study (REVEAL). *Blood*. 2019;134(Supplement_1):168-.
 35. Büyükaşık Y, Ali R, Turgut M, Saydam G, Yavuz S, Ünal A, et al. Patterns of Hydroxyurea Prescription and Use in Routine Clinical Management of Polycythaemia Vera: a Multicentre Chart Review Study Running Title: Hydroxyurea in Routine PV Care. *Turkish journal of haematology: official journal of Turkish Society of Haematology*. 2020.
 36. Dingli D, Tefferi A. Hydroxyurea: the drug of choice for polycythemia vera and essential thrombocythemia. *Current hematologic malignancy reports*. 2006;1(2):69-74.
 37. Cornu P. Long-term hematological management of cyanotic congenital heart diseases. *Archives des maladies du coeur et des vaisseaux*. 1994;87(11):1413-20.

38. Triadou P, Maier-Redelsperger M, Krishnamoorthy R, Deschamps A, Casadevall N, Dunda O, et al. Fetal haemoglobin variations following hydroxyurea treatment in patients with cyanotic congenital heart disease. *Nouvelle revue francaise d'hematologie*. 1994;36(5):367-72.
39. Silver RT, editor *Treatment of polycythemia vera*. Seminars in thrombosis and hemostasis; 2006: Copyright© 2006 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New York.
40. Ferrari A, Carobbio A, Masciulli A, Ghirardi A, Finazzi G, De Stefano V, et al. Clinical outcomes under hydroxyurea treatment in polycythemia vera: a systematic review and meta-analysis. *Haematologica*. 2019;104(12):2391-9.
41. Antonioli E, Carobbio A, Pieri L, Pancrazzi A, Guglielmelli P, Delaini F, et al. Hydroxyurea does not appreciably reduce JAK2 V617F allele burden in patients with polycythemia vera or essential thrombocythemia. *Haematologica*. 2010;haematol.2009.021444.
42. Demuynck T, Verhoef G, Delforge M, Vandenberghe P, Devos T. Polycythemia vera and hydroxyurea resistance/intolerance: a monocentric retrospective analysis. *Annals of hematology*. 2019;98(6):1421-6.
43. Alvarez-Larrán A, Díaz-González A, Such E, Mora E, Andrade-Campos M, García-Hernández C, et al. Genomic characterization of patients with polycythemia vera developing resistance to hydroxyurea. *Leukemia*. 2020:1-5.
44. Boccia RV, Stein B, Mesa RA, Naim AB, Cordaro JA, Peng W, et al. Burden of phlebotomy in patients with polycythemia vera in the United States: baseline data from the Reveal study. *American Society of Hematology* Washington, DC; 2015.

LÍNEAS GUÍA PARA EL DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE LAS ERITROCITOSIS PATOLÓGICAS EN LA ALTURA

Amaru Ricardo, Amaru Ariel, Vera Oscar, Patón Daniela.

Unidad de Biología Celular, Facultad de Medicina, UMSA, La Paz, Bolivia.

Cátedra de Farmacología, Facultad de Medicina, UMSA, La Paz, Bolivia.

INTRODUCCIÓN

La eritrocitosis, comúnmente llamada poliglobulia, es un síndrome caracterizado por un incremento anormal de la masa eritrocitaria, la hemoglobina y el hematocrito; es de etiología multifactorial y desencadena el deterioro de la salud afectando la vida social, familiar y laboral del paciente ^(1,2).

Las principales eritrocitosis patológicas de importancia clínica son la Eritrocitosis Patológica de Altura (EPA), la Eritrocitosis Secundaria (ES) y la Policitemia Vera (PV), estas 3 patologías engloban la mayor parte de todas las eritrocitosis patológicas diagnosticadas en la altura. De todas estas eritrocitosis observadas en consulta médica, la EPA constituye el 8 %, la ES el 90 % y la PV el 1 % aproximadamente ⁽¹⁾.

En la región andina, comprendida por Bolivia, Perú, Ecuador y Chile, millones de habitantes residen a más de 2500 metros sobre el nivel del mar (m s. n. m.) ⁽³⁾. En Bolivia, alrededor de 2 000 000 habitantes residen en las ciudades de La Paz y El Alto entre 3650 y 4000 m s. n. m, donde se considera que existen más de 150 000 pacientes con eritrocitosis patológicas ⁽⁴⁾.

Atendiendo a dichas razones, el presente documento está destinado a los cuatro niveles de atención médica y tiene la intención de establecer criterios comunes para el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de las eritrocitosis patológicas en la altura.

CLASIFICACIÓN DE LAS ERITROCITOSIS PATOLÓGICAS

Las eritrocitosis patológicas de importancia clínica y tratamiento oportuno requerido son las siguientes:

1. Eritrocitosis Primaria

(Eritropoyetina sérica disminuida)

- Policitemia Vera

2. Eritrocitosis Secundaria

(Eritropoyetina sérica elevada)

- Secundaria a EPOC
- Secundaria a Obesidad / Síndrome metabólico.
- Síndrome de apnea del sueño.
- Tabaquismo
- Testosterona incrementada
- Cardiopatías adquiridas y congénitas

3. Eritrocitosis Mixta

(eritropoyetina sérica normal)

- Eritrocitosis Patológica de Altura

De esta forma, estas líneas guía centran su atención en las 3 eritrocitosis patológicas de importancia clínica presentes en poblaciones andinas (Ciudades de La Paz y El Alto) residentes de grandes alturas.

Eritrocitosis Patológica de Altura (EPA)

La EPA es la manifestación hematológica del mal crónico de montaña (*Chronic Mountain Sickness, CMS*). Se presenta en sujetos que viven en alturas superiores a 2500 m s. n. m. como resultado de una adaptación inadecuada a grandes alturas ^(1,5-7).

Eritrocitosis Secundaria (ES)

La ES se presenta como una consecuencia de patologías asociadas al aumento de la eritropoyetina sérica como en la Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC), obesidad, síndrome metabólico, síndrome de apnea obstructiva del sueño (SAOS), cardiopatías, tabaquismo y niveles incrementados de testosterona ^(1, 8-11).

Policitemia Vera (PV)

La PV es una enfermedad oncohematológica clonal asociada a leucocitosis, trombocitosis, crecimiento autónomo de colonias eritroides (BFU-E), eritropoyetina sérica baja y mutación somática de gen JAK2^{V617F} ^(1, 12-16).

ETIOPATOGENIA

Cada una de las diferentes eritrocitosis patológicas (EPA, ES, PV) tienen una etiopatogenia específica.

Eritrocitosis Patológica de Altura

La EPA es el resultado de una adaptación genética inadecuada a grandes alturas, altitudes superiores a 2500 m s. n. m., donde los progenitores hematopoyéticos de la médula ósea presentan una hipersensibilidad a la eritropoyetina, seguida de una eritropoyesis incrementada y una subsecuente disminución de la apoptosis en la línea eritroide ^(5, 6, 17).

Eritrocitosis Secundaria

La ES basa su etiopatogenia en el incremento de la eritropoyetina sérica, está asociada a patologías cardiopulmonares, obesidad, apnea de sueño, etc. ^(1, 18-20).

Policitemia Vera

Esta enfermedad neoplásica se caracteriza por la mutación del gen JAK2^{V617F}. Está mutación da lugar a una fosforilación continua (hiperactivación) de JAK2 y STAT5, factores de transcripción involucrados en la eritropoyesis, que da como resultado una eritropoyesis incrementada ^(21, 22).

INCIDENCIA

Los diferentes estudios epidemiológicos realizados en la región andina han reportado datos sobre las eritrocitosis patológicas (EPA, ES y otras) en forma conjunta; por ello, no se tiene datos sobre la incidencia real de cada una de ellas.

La incidencia de estas eritrocitosis patológicas en la región andina varía de acuerdo a la población, ocupación y lugar de residencia. Por ejemplo, en las ciudades de La Paz y El Alto (3650 y 4000 m s. n. m.) se considera una incidencia del 10% de la población ^(17, 23).

Así también, los datos históricos de la incidencia de la Policitemia Vera se encuentran alrededor de 1 por cada 1.000.000 habitantes por año ^(24, 25).

FACTORES PREDISPONENTES

Las eritrocitosis patológicas en la altura presentan diferentes factores predisponentes para su desarrollo.

Eritrocitosis Patológica de Altura

- Radicatoria en alturas mayores a 2500 m s. n. m.
- Adaptación hematológica inadecuada
- Sujetos nacidos a nivel del mar
- Historia familiar con residencia a nivel del mar

Eritrocitosis Secundaria

- Secuelas de patologías pulmonares
- Patologías pulmonares crónicas
- Obesidad / Síndrome metabólico
- Síndrome de Apnea Obstructiva del Sueño (SAOS)
- Cardiopatías
- Tabaquismo
- Niveles elevados de testosterona

Policitemia Vera

- Edad, adulto mayor
- Antecedentes familiares de PV

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Las eritrocitosis patológicas (EPA, ES, PV) presentan manifestaciones clínicas comunes; entre ellas, una triada clínica compuesta por cefalea, disnea y parestesia es observada con frecuencia.

Síntomas de hiperviscosidad sanguínea

- Cefaleas
- Disneas
- Parestesias
- Tinnitus
- Hipersomnias
- Visión borrosa
- Mialgias
- Alteraciones del estado de conciencia

Signos de aumento de masa eritrocitaria

- Hiperemia
- Facies pletórica

Signos de disminución de la saturación de oxígeno

- Cianosis periférica

Signos de hipervolemia

- Ingurgitación venosa
- Edema en miembros inferiores

Sin embargo, cada una de las eritrocitosis patológicas presentan sintomatología adicional propia, que las distingue unas de otras. Así, por ejemplo, la ES generalmente presenta una patología cardiopulmonar^(21,22); mientras que, la PV presenta sintomatología propia de enfermedades neoplásicas como eventos trombóticos frecuentes, esplenomegalia y pérdida de peso⁽²³⁻²⁵⁾.

COMPLICACIONES

Las eritrocitosis patológicas suelen presentar complicaciones que agravan el cuadro clínico y por ende requerirán una atención médica de urgencia. Las complicaciones más frecuentes son:

- Hipertensión Arterial Sistémica (HAS), secundaria a hipervolemia
- Hipertensión Arterial Pulmonar (HAP), caracterizada por disnea y lipotimias
- Eventos trombóticos, caracterizados por TVP y TEP
- Hemorragias, sobre todo epistaxis
- Insuficiencia cardíaca descompensada

Es importante mencionar que, las complicaciones en cada una de las eritrocitosis patológicas tienen ciertas particularidades; así por ejemplo, considerando un orden de frecuencia, las

principales complicaciones en la EPA son HAP, HAS y hemorragias; en la ES son HAP, HAS y trombosis; y en la PV son trombosis, HAP y HAS.

MANIFESTACIONES LABORATORIALES

Las eritrocitosis patológicas presentan alteraciones en la química sanguínea relacionadas con un aumento en la eritropoyesis, la hemólisis y el recambio de la línea eritroide.

a) Aumento de eritropoyesis

- Hemoglobina elevada
- Hematocrito elevado
- Reticulocitos incrementados

El punto de corte de los valores de hemoglobina para el diagnóstico de eritrocitosis en una población depende de variables como edad, género, raza y altura de residencia^(26, 27). Así, por ejemplo, en Bolivia, en las ciudades de La Paz y El Alto, los valores normales son de 14 a 17 g/dl para las mujeres y de 15 a 18 g/dl para los varones. Se considera eritrocitosis cuando el paciente presenta una hemoglobina superior a 18 g/dl en mujeres y superior a 19 g/dl en varones.

b) Aumento de hemólisis

- Lactato deshidrogenasa incrementado
- Bilirrubina indirecta incrementada^(28, 29)

c) Incremento del recambio de la serie eritroide

Acido úrico elevado⁽³⁰⁻³²⁾

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DE LAS ERITROCITOSIS PATOLÓGICAS

La EPA, ES, y PV comprenden el 99 % de todas las eritrocitosis patológicas en habitantes de grandes alturas. Sin embargo, en la práctica clínica es necesario realizar un diagnóstico diferencial entre estas 3 principales eritrocitosis^(1, 33, 34) (Cuadro 1).

CRITERIOS DE DIAGNÓSTICO

Cada una de las eritrocitosis patológicas presenta criterios de diagnóstico específicos y diferenciales^(1, 33).

Cuadro 1. Diagnóstico diferencial de las eritrocitosis patológicas en habitantes a grandes alturas

	CN	EPA	ES	PV
Epoc, obesidad, tabaquismo	No	No	Si	No
Esplenomegalia	No	No	No	Si
Leucocitosis	No	No	No	Si
Eritropoyetina sérica	Normal	Normal	Elevada	Baja
Mutación JAK2^{V617F}	No	No	No	Si
Complicaciones (por frecuencia de presentación)	-	HAP HAS Hemorragia	HAP HAS Trombosis	Trombosis HAP HAS

a) Eritrocitosis Patológica de Altura

- Eritropoyetina sérica normal (10 a 20 mUI/ml)
- Ausencia de enfermedad pulmonar crónica
- Ausencia de Obesidad/Síndrome metabólico
- Ausencia de Cardiopatía

b) Eritrocitosis Secundaria

- Eritropoyetina sérica aumentada > 30 mUI/ml
- Enfermedad pulmonar crónica
- Obesidad/Síndrome metabólico
- Apnea obstructiva del sueño
- Tabaquismo
- Testosterona incrementada

c) Policitemia Vera

- Eritropoyetina sérica disminuida <5 mUI/ml

La PV tiene criterios mayores y menores establecidos internacionalmente.

•Criterio mayor

- A1: Masa eritrocitaria aumentada (>25 % de la media normal)
- Hemoglobina > 17 g/dl o Hematocrito > 60 % en mujeres
- Hemoglobina >18 g/dl o Hematocrito > 63 % en varones
- A2: Ausencia de criterios para eritrocitosis secundaria
- A3: Esplenomegalia palpable
- A4: Marcador de clonalidad (mutación JAK2)

•Criterio Menor

- B1: Trombocitosis (>400/ul)
- B2: Leucocitosis con neutrofilia (Neutrófilos >10.000/ul en no fumadores y 12.000/ul en fumadores)
- B3: Esplenomegalia, documentada por ecografía
- B4: Presencia de colonias BFU-E autónomas

El diagnóstico definitivo de la PV resulta de la sumatoria de los criterios descritos.

- A1 + A2 + A3 or A4 = PV
- A1 + A2 + 2B = PV

HISTORIA CLÍNICA

La anamnesis debe considerar antecedentes familiares, laborales, patológicos, así como el lugar de residencia.

Antecedentes familiares

- Historia familiar de eritrocitosis
- Historia familiar de radicatoria en la altura

Antecedentes laborales

- Trabajadores de interior mina
- Trabajadores con riesgo de desarrollar silicosis

Antecedentes patológicos

- Asma bronquial
- Tuberculosis pulmonar
- Enfisema
- Cardiopatía

Lugar de residencia

- Altura de residencia mayor a 2500 m s. n. m.

ESTUDIOS LABORATORIALES

a) Etapa 1 (indispensable)

- Hemograma
- Eritropoyetina sérica
- Ácido úrico
- Lactato deshidrogenasa
- Rx PA de tórax
- Saturación de oxígeno
- Testosterona sérica (opcional, en caso de testosterona incrementada por neoplasia o medicación)
- Ferritina sérica (opcional, en caso de probable deficiencia de hierro)

En caso de no tener aún un diagnóstico definido, pero alta sospecha de Eritrocitosis Secundaria, pasar a la etapa 2.

b) Etapa 2. (Sospecha de Eritrocitosis Secundaria)

- Pruebas funcionales respiratorias, para diagnóstico de patología pulmonar
- TAC toraco-abdominal, cuando existe sospecha de secreción anormal de eritropoyetina por neoplasia
- Ecocardiografía, para diagnóstico de Hipertensión Arterial Pulmonar
- Gasometría arterial, para valoración de acidosis respiratoria

En caso de no tener un diagnóstico definitivo aún, pero sospecha de Policitemia Vera, pasar a la etapa 3.

c) Etapa 3. (Sospecha de Policitemia Vera)

- Aspirado de médula ósea
- Estudio biomolecular de la mutación del gen JAK2^{V617F}

En casos excepcionales, de no tener diagnóstico definitivo, pasar a la etapa 4.

d) Etapa 4. (Estudios específicos)

- Cultivo de colonias eritrocitarias, para detectar Colonias Eritroides endógenas (CEE)
- Polisomnografía (estudio del sueño)
- Electroforesis de hemoglobina

TRATAMIENTO DE LAS ERITROCITOSIS PATOLÓGICAS

El tratamiento de las eritrocitosis patológicas en la altura (EPA, ES y PV) se considera dos fases; la primera, el procedimiento de flebotomías que tiene el objetivo de disminuir la sintomatología del paciente; y la segunda, el tratamiento farmacológico que tiene la finalidad de establecer y mantener un cuadro clínico estable, evitando recaídas y complicaciones.

TRATAMIENTO DE LA ERITROCITOSIS PATOLÓGICA DE ALTURA (EPA)

Flebotomía

Se realiza flebotomías con frecuencia semanal hasta alcanzar valores normales de Hb/Ht (Varones <18 g/dl, mujeres <17g/dl), utilizando una bolsa de transfusión sanguínea a nivel de la vena del pliegue del codo.

- Flebotomía de 450 ml, sin reposición
 - Edad menor a 65 años
 - Hemodinámicamente estable
 - Hipertensión Arterial Sistémica
- Flebotomía de 250 ml, sin reposición
 - Edad de 65 a 75 años
 - Hemodinámicamente estable
 - Hipertensión Arterial Sistémica
- Flebotomía de 100 ml, sin reposición, cada día
 - Insuficiencia cardíaca congestiva descompensada
- Pacientes con contraindicaciones para flebotomía
 - Adultos mayores a 75 años requieren terapia farmacológica distinta (*)

Tratamiento farmacológico

Iniciar el tratamiento inmediatamente después de la última flebotomía. El tratamiento dura un año como mínimo y luego se procede a valorar su continuidad.

- Atorvastatina 20 mg VO día a horas 21:00. En pacientes mayores de 65 años, 10 mg VO día
- ASA 100 mg VO día, después del desayuno

(*) Pacientes con contraindicaciones para flebotomía

Tratamiento farmacológico con:

- Hidroxiurea 500 mg VO días lunes, miércoles y viernes
- Atorvastatina 20 mg VO día
- ASA 100 mg VO día

TRATAMIENTO DE LA ERITROCITOSIS SECUNDARIA (ES)

Flebotomía

La flebotomía se realiza con frecuencia semanal, hasta alcanzar valores normales de Hb (Varones <18 g/dl, mujeres <17 g/dl) en una bolsa de transfusión sanguínea a nivel de la vena del pliegue del codo.

- Flebotomía de 450 ml, sin reposición
 - Edad menor a 65 años
 - Hemodinámicamente estable
 - Hipertensión Arterial Sistémica
- Flebotomía de 250 ml, sin reposición
 - Edad de 65 a 75 años
 - Hemodinámicamente estable
 - Hipertensión Arterial Sistémica
- Flebotomía de 100 ml, sin reposición, cada día
 - Insuficiencia cardíaca congestiva descompensada
- Pacientes con contraindicaciones para flebotomía
 - Adultos mayores a 75 años o pacientes con cardiopatías o fibrosis pulmonar requieren terapia farmacológica distinta (*).

Nota: En caso de hemoglobina mayor a 24 g/dl, se recomienda administrar 3 L/min de oxígeno húmedo durante la flebotomía.

Tratamiento farmacológico

Iniciar el tratamiento inmediatamente después de la última flebotomía. El tratamiento dura un año como mínimo y luego se procede a valorar su continuidad.

- Atorvastatina 20 mg VO día a horas 21:00. En pacientes mayores de 65 años, 10 mg VO día
- ASA 100 mg VO día, después del desayuno

Asimismo, valorar la prescripción de los siguientes medicamentos según la etiología de la ES.

- Teofilina de liberación prolongada 250 mg VO día, en pacientes con EPOC
- Metformina 850 mg VO día después del almuerzo, en pacientes con obesidad / síndrome metabólico
- Ascorbato (vitamina C) 250 mg VO día, en pacientes con testosterona sérica incrementada

(*) Pacientes con contraindicaciones para flebotomía

Tratamiento farmacológico con:

- Hidroxiurea 500 mg VO días lunes, miércoles y viernes
- Atorvastatina 20 mg VO día
- ASA 100 mg VO día

Fisioterapia y otros

- Fisioterapia respiratoria, útil para todos los pacientes con ES
- Uso de CIPAP ambulatorio para pacientes con ES asociada a Apnea Obstructiva del sueño

TRATAMIENTO DE LA POLICITEMIA VERA (PV)

La PV al ser una enfermedad neoplásica adecuadamente caracterizada presenta líneas guía establecidas internacionalmente. Sin embargo, en los pacientes con PV de alto riesgo, el costo del tratamiento puede llegar a ser alto e inaccesible en pacientes de recursos económicos limitados; por ello, un protocolo propuesto es la asociación de:

- Hidroxiurea 500 mg VO día
- Atorvastatina 20 mg VO día
- ASA 100 mg VO día

Se ha evidenciado la efectividad de este protocolo a través de un estudio realizado en un grupo de pacientes que actualmente cursan el duodécimo año de tratamiento, con *performance status* entre 1 y 0 (en prensa). El protocolo se sustenta en:

- La hidroxiurea (HU) como un fármaco citorreductor ampliamente conocido para el tratamiento de la policitemia vera.
- La atorvastatina (ATV) por sus efectos pleiotrópicos involucrados en la prevención

de eventos trombóticos, también como sensibilizador de la acción de la hidroxiurea (HU) que permite usar dosis bajas de HU.

- El ácido acetilsalicílico (ASA) como un antiagregante plaquetario y un inhibidor de la proteína NFκB1 que regula la eritropoyesis a través de la disminución de HIF1α y disminuye la eritropoyesis.

CONTROL Y MONITOREO DEL TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO

Si bien no se ha observado presencia de efectos secundarios o eventos adversos por el empleo y administración de los fármacos propuestos, realizar un permanente monitoreo es importante.

- Atorvastatina, se la puede monitorear controlando la presencia de dolores musculares y dosificación de la CPK sérica cada 6 meses (o en caso de dolor muscular).
- ASA, vigilar la presencia de epistaxis, equimosis y otro tipo de sangrados.
- Hidroxiurea, mantener un recuento de neutrófilos mayor a 2000 /ul y de plaquetas mayor a 100 000/ul.

TRATAMIENTO DE LAS COMPLICACIONES

Las eritrocitosis patológicas suelen presentar complicaciones que agravan el cuadro clínico, esto requiere una atención médica de urgencia. Los eventos trombóticos, Hipertensión Arterial Sistémica (HAS), Hipertensión Arterial Pulmonar (HAP), hemorragias e insuficiencias cardíacas son las complicaciones más frecuentemente observadas.

Evento trombótico

- Proceder al empleo de heparina, warfarina u otro anticoagulante oral de acuerdo a protocolo institucional.
- Descontinuar ASA.

Hipertensión Arterial Sistémica (HAS)

- Proceder con sangrías, considerando que en estos casos la PA disminuye posterior a las sangrías. Más de 50 % de pacientes con ES presentan HAS secundaria a hipervolemia.

- Coordinar con cardiología el posible uso de anti-hipertensivos.

Hipertensión Arterial Pulmonar (HAP)

- Proceder con sangrías para disminuir la HAP, valorar la HAP posteriormente.
- Coordinar con neumología para inicio de tratamiento farmacológico de la HAP.

Hemorragias

- Proceder de acuerdo a protocolo institucional. Generalmente, las hemorragias remiten con el descenso de la HAS por sangrías.
- Algunas veces es necesario suspender ASA temporalmente.

Insuficiencias cardíacas

- Sangrías de 100 ml, cada día, durante 5 días. Posteriormente, efectuar una valoración para continuar sangrías hasta alcanzar niveles normales de hemoglobina.
- Coordinar con cardiología para tratamiento farmacológico.

RECOMENDACIONES

Las eritrocitosis patológicas en la altura, por su complejidad y presentación clínica variada, requieren el concurso de los cuatro niveles de atención médica.

Niveles de Resolución

Primer nivel:

- Promoción de una vida saludable
- Prevención de la obesidad
- Estimulación de una actividad física permanente
- Tratamiento de patologías crónicas de las vías respiratorias
- Seguimiento del tratamiento de las eritrocitosis patológicas

Segundo Nivel:

- Flebotomías
- Tratamiento farmacológico: inicio y seguimiento
- Tratamiento de las complicaciones en las eritrocitosis patológicas

Tercer Nivel:

- Evaluación de las complicaciones en las eritrocitosis patológicas
- Ensayos clínicos para establecer nuevos tratamientos

Cuarto Nivel

- Estudios de las eritrocitosis patológicas con etiología no definida
- Diseño y análisis de estudios clínicos para el tratamiento de las eritrocitosis patológicas
- Investigación sobre los mecanismos moleculares y acción farmacológica en las eritrocitosis en grandes alturas

Referencias

1. Amaru R, Quispe T, Torres G, Mamani J, Aguilar M, Miguez H, et al. Caracterización clínica de la eritrocitosis patológica de altura. *Revista de Hematología*. 2016;17(1):8-20.
2. Beall CM, Strohl KP, Brittenham GM, editors. Reappraisal of Andean high altitude erythrocytosis from a Himalayan perspective. *Seminars in Respiratory Medicine*; 1983: Copyright© 1983 by Thieme Medical Publishers, Inc.
3. Eichstaedt CA, Antao T, Pagani L, Cardona A, Kivisild T, Mormina M. The Andean adaptive toolkit to counteract high altitude maladaptation: genome-wide and phenotypic analysis of the Collas. *PloS one*. 2014;9(3).
4. Amaru Lucana R, Vera Carrasco O. Guía para el diagnóstico y tratamiento de las eritrocitosis patológicas en la altura. *Revista Médica La Paz*. 2016;22(2):70-7.
5. Amaru R, Villarroel M, Miguez H, Peñaloza R, Torres G, Barbui T, et al. Hematopoietic Progenitor Cells From Patients with Chronic Mountain Sickness Lack the JAK2V617F Mutation, Show Hypersensitivity to Erythropoietin and Are Inhibited by Statins. *American Society of Hematology*; 2009.
6. Amaru R, Amaru A, Miguez H, Gina T, Mamani J, Vera O, et al. Bolivian aymara natives with chronic mountain sickness have autonomous bfu-e growth. *Blood*. 2015;126:5206.
7. Song J, Han S, Amaru R, Quispe T, Kim D, Crawford JE, et al. Novel Form of Alternative Splicing of NFKB1. Its Role in Polycythemia and Adaptation to High Altitude in Andean Aymara. *Blood*. 2018;132(Supplement 1):2316-.
8. Galindo JL, Granados CE, García-Herreros P, Saavedra A, Sánchez EA. Erythrocytosis Secondary to Hypoxemia in Chronic Lung Diseases: From Rheology to Clinical Practice. *Revista de la Facultad de Medicina*. 2016;64(2):309-17.
9. Guzmán REG. Artículo de revision. Eritrocitosis secundaria.
10. Amaru R, Vera O, Loza F, Patón D, Carrasco M, Quispe T. Hipertensión Arterial Pulmonar en pacientes con eritrocitosis patológicas. *Revista Médica La Paz*. 2019;25(2):27-35.
11. Gonzales GF, Gasco M, Tapia V, Gonzales-Castañeda C. High serum testosterone levels are associated with excessive erythrocytosis of chronic mountain sickness in men. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*. 2009;296(6):E1319-E25.
12. Pearson TC, Messinezy M, Westwood N, Green AR, Bench AJ, Green AR, et al. A polycythemia vera update: diagnosis, pathobiology, and treatment. *ASH Education Program Book*. 2000;2000(1):51-68.
13. Barbui T, Thiele J, Carobbio A, Guglielmelli P, Rambaldi A, Vannucchi AM, et al. Discriminating between essential thrombocythemia and masked polycythemia vera in JAK2 mutated patients. *American journal of hematology*. 2014;89(6):588-90.
14. Tefferi A. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2012 update on diagnosis, risk stratification, and management. *American journal of hematology*. 2012;87(3):284-93.
15. Amaru R, Amaru A, Miguez H, Torres G, Mamani J, Aguilar M, et al. Successful Treatment of HU-Refractory Polycythemia Vera with Atorvastatin and Low Dose Hydroxyurea. Results from a Pilot Study in Bolivia. *American Society of Hematology Washington, DC*; 2015.
16. Calzada AA, Todoerti K, Donadoni L, Pelliccioli A, Tuana G, Gatta R, et al. The HDAC inhibitor Givinostat modulates the hematopoietic transcription factors NFE2 and C-MYB in JAK2V617F myeloproliferative neoplasm cells. *Experimental hematology*. 2012;40(8):634-45. e10.
17. Ricardo A, Miguez H, Peñaloza R, Torres G, Vera O, Velarde J, et al. Eritrocitosis patológica de altura: Caracterización biológica, diagnóstico y tratamiento. *Revista Médica La Paz*. 2013;19(2):5-18.
18. Prchal JT, Sokol L. "Benign erythrocytosis" and other familial and congenital polycythemia. *European journal of haematology*. 1996;57(4):263-8.

19. Drenou B, Le YT, Caulet-Maugendre S, Le AG, Leclercq C, Guilhem I, et al. Pheochromocytoma and secondary erythrocytosis: role of tumour erythropoietin secretion. *Nouvelle revue française d'hématologie*. 1995;37(3):197-9.
20. Zwillich CW, Sutton FD, Pierson DJ, Creagh EM, Weil JV. Decreased hypoxic ventilatory drive in the obesity-hypoventilation syndrome. *The American journal of medicine*. 1975;59(3):343-8.
21. McKeage K. Ruxolitinib: a review in polycythaemia vera. *Drugs*. 2015;75(15):1773-81.
22. Saecidi K. Myeloproliferative neoplasms: Current molecular biology and genetics. *Critical reviews in oncology/hematology*. 2016;98:375-89.
23. Pasha MQ, Newman JH. High-altitude disorders: pulmonary hypertension: pulmonary vascular disease: the global perspective. *Chest*. 2010;137(6):13S-9S.
24. Tefferi A. Myeloproliferative neoplasms: a decade of discoveries and treatment advances. *American journal of hematology*. 2016;91(1):50-8.
25. de Freitas RM, da Costa Maranduba CM. Myeloproliferative neoplasms and the JAK/STAT signaling pathway: an overview. *Revista brasileira de hematologia e hemoterapia*. 2015;37(5):348-53.
26. Gonzales GF, Tapia V. Hemoglobina, hematocrito y adaptación a la altura: su relación con los cambios hormonales y el periodo de residencia multigeneracional. *Revista Med*. 2007;15(1):80-93.
27. Peñaloza R, Amaru R, Miguez H, Torres G, Araoz R, Alvarez G, et al. Influencia de la altura en la eritropoyesis del recién nacido. *Cuadernos Hospital de Clínicas*. 2007;52(1):17-9.
28. Chalasani P, Segar JM, Marron M, Stopeck A. Pathophysiology of tumour-induced microangiopathic haemolytic anaemia. *Case Reports*. 2016;2016:bcr2015213521.
29. Poupon C, Lefèvre G, Ngo-François S, Alibeu C, Barbé F, Bourbonneux V, et al., editors. Hemolysis interferences on frequently required stat analysis: a French multicentric study. *Annales de biologie clinique*; 2015.
30. Zhu X, Chen J, Han F, Cheng M, Xu L, Zhang L, et al., editors. Efficacy and safety of losartan in treatment of hyperuricemia and posttransplantation erythrocytosis: results of a prospective, open, randomized, case-control study. *Transplantation proceedings*; 2009: Elsevier.
31. Jefferson JA, Escudero E, Hurtado M-E, Kelly JP, Swenson ER, Wener MH, et al. Hyperuricemia, hypertension, and proteinuria associated with high-altitude polycythemia. *American Journal of Kidney Diseases*. 2002;39(6):1135-42.
32. Peñaloza I, Navía MdP, Amaru L. Relación entre ácido urico sérico y la eritrocitosis de altura. *Cuad Hosp Clín*. 2000:18-25.
33. McMullin MF, Bareford D, Campbell P, Green A, Harrison C, Hunt B, et al. Guidelines for the diagnosis, investigation and management of polycythaemia/erythrocytosis. *British journal of haematology*. 2005;130(2):174-95.
34. Barosi G, Mesa R, Finazzi G, Harrison C, Kiladjian J-J, Lengfelder E, et al. Revised response criteria for polycythemia vera and essential thrombocythemia: an ELN and IWG-MRT consensus project. *Blood*. 2013;121(23):4778-81.

ESTATINAS EN EL TRATAMIENTO DE LAS ERITROCITOSIS PATOLÓGICAS

Amaru Ricardo, Quispe Teddy, Luna Julieta, Mancilla Silvia, Patón Daniela, Amaru Ariel

Unidad de Biología Celular, Facultad de Medicina, UMSA, La Paz, Bolivia.

INTRODUCCIÓN

La Eritrocitosis Patológica de Altura (EPA) es la manifestación hematológica de la Enfermedad Crónica de Altura (enfermedad de Monge), está caracterizada por un aumento del número de eritrocitos, hemoglobina y hematocrito. Su etiología es de carácter genético, involucra un grupo de genes comprometidos en la eritropoyesis concatenando una adaptación parcial a grandes alturas. Es así que, la EPA forma parte de otras eritrocitosis patológicas de importancia clínica en la altura tales como la Eritrocitosis Secundaria (ES) y la Policitemia Vera (PV) ⁽¹⁻³⁾.

El tratamiento de las eritrocitosis patológicas conlleva el empleo de distintos fármacos y uno de ellos son las estatinas. Las estatinas son inhibidores de la enzima HMG-CoA reductasa que bloquean o disminuyen la velocidad de la vía del mevalonato y sus productos finales ⁽⁴⁻⁶⁾. La Hidroxi-Metil-Glutaril-Coenzima-A (HMG-CoA) se forma a partir de 3 moléculas de acetil-CoA del citoplasma celular, y se reduce a Mevalonato gracias a la enzima HMG-CoA reductasa. El mevalonato es el precursor clave de la vía metabólica cuyos productos finales son el colesterol, dolicol, ubiquinona e isoprenoides ⁽⁷⁻⁹⁾. La HMG-CoA reductasa es una de las enzimas más regulables y determinantes de la velocidad de la biosíntesis de la vía del mevalonato, ubicada en el retículo endoplásmico ⁽¹⁰⁻¹²⁾. Existen evidencias experimentales que sugieren que los productos finales de la vía del mevalonato están involucrados en la regulación de la proliferación celular, apoptosis celular ⁽¹³⁻¹⁵⁾ y la diferenciación de la eritropoyesis ⁽¹⁶⁾.

De esta manera, este capítulo concierne la

descripción de los mecanismos moleculares de las estatinas, la acción de inhibición de la eritropoyesis y efectos para el tratamiento de pacientes con eritrocitosis patológicas (EPA, ES, PV).

ACCIÓN FARMACOLÓGICA Y MECANISMOS MOLECULARES

El tejido hematopoyético como responsable de la producción de células sanguíneas requiere la presencia de células progenitoras hematopoyéticas (CPH) pluripotentes con capacidad de autorenovación y diferenciación para asegurar una producción continua de nuevas células, necesarias para reemplazar elementos sanguíneos maduros. En la eritropoyesis, las CPH promueven una diferenciación progresiva hasta eritrocitos maduros, y las etapas implicadas en este proceso de diferenciación son complejos, van desde CFU-Mix (Colony-Forming Unit- Mix), luego BFU-E (Burst-Forming Unit- Erythroid), CFU-E (Colony- Forming Unit- Erythroid) y finalmente, células eritroides morfológicamente reconocibles en la médula ósea (proeritroblastos, eritroblastos, reticulocitos y eritrocitos) ⁽¹⁷⁻²⁰⁾. Durante la diferenciación, las células presentan receptores de la eritropoyetina (EpoR) que se hacen sensibles a la eritropoyetina (Epo) ^(17, 21-24).

Ahora bien, las estatinas como inhibidores de la HMG-CoA reductasa tienen un rol objetivo en la inhibición de la síntesis endógena del colesterol; pero, además, tienen acciones pleiotrópicas que intervienen en la proliferación, diferenciación y apoptosis de las células de la línea eritroide ^(2, 25, 26).

Se conoce que Larghero J et al. reportó que el tipifarnib, un fármaco inhibidor de la farnesiltransferasa, inhibe la proliferación de las

colonias BFU-E en pacientes con Policitemia Vera ⁽²⁷⁾ (Figura 1), así también que, el tipifarnib inhibe específicamente a la enzima farnesiltransferasa disminuyendo así la proteína RAS farnesilada ⁽²⁸⁻³²⁾. De similar forma, las estatinas inhiben, específicamente “ríó abajo” en la vía del mevalonato, a la enzima HMG-CoA reductasa disminuyendo de este modo las concentraciones de todos los metabolitos en esta vía ⁽³³⁻³⁵⁾ (Figura 2). Esta observación constituyó un fundamento para diseñar protocolos experimentales con las estatinas.

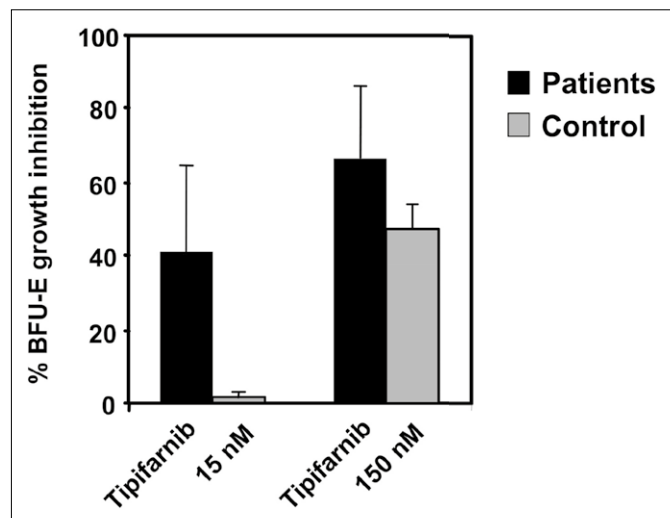


Figura 1. Mecanismo de acción farmacológica del tipifarnib. Las columnas oscuras representan a pacientes con Policitemia Vera y las columnas claras a controles normales. Las concentraciones de 15 nM de tipifarnib solo inhiben las colonias BFU-E de pacientes con Policitemia Vera, pero a 150 nM de concentración se inhiben tanto las colonias de pacientes como las de controles normales. (Larghero J. Blood 2005;105:3743-3745).

Así, la acción farmacológica y los mecanismos moleculares de las estatinas tienen que ver con la disminución de las proteínas geranilgeranilizadas, la inactivación de la proteína Rho y el aumento de las proteínas p21/p27. Subsecuentemente, la disminución de las proteínas geranilgeranilizadas inducen apoptosis celular y finalmente, el aumento de las proteínas p21/p27 bloquean la fase S del ciclo celular produciendo efectos antiproliferativos ⁽³⁶⁻³⁸⁾ (Figura 3).

Varios autores trabajando en modelos celulares han demostrado que las estatinas inhiben la

eritropoyesis ^(14, 26, 39); así mismo, orientando esos datos con nuestro trabajo en el tratamiento de las eritrocitosis en la altura se observó que, las principales vías moleculares comprometidas son las siguientes: 1) Inducción de la apoptosis celular, 2) Inhibición de la proliferación celular, 3) Inhibición de la diferenciación celular, 4) Bloqueo de la isoprenilación de las proteínas Rho y Ras, 5) Inhibición de la fosforilación de Jak- 2 y Stat-5, 6) Inhibición de la glicosilación de la EpoR, 7) Alteración de dominios Lipid Raft, y 8) Inhibición la expresión de ROCK1 y ROCK2.

1) Inducción de apoptosis celular

Se realizó cultivo de CPH que proliferan y diferencian en presencia de eritropoyetina para evaluar la acción de las estatinas en la inducción de la apoptosis eritroide ⁽³⁾. Los medios de cultivo celular líquido y semisólido fueron suplementadas a diferentes concentraciones de simvastatina, como inhibidor de la HMG-CoA-reductasa, en presencia de suero fetal bovino y eritropoyetina como factores de supervivencia. En medio de cultivo líquido, los progenitores eritroides sin simvastatina presentaron 12.3 % de apoptosis y el grupo suplementado con simvastatina presentó 38.4 % de apoptosis, dato estadísticamente diferente (p:0.001). Figura 4.

Con todo lo evidenciado, se estableció las siguientes implicancias en relación con la apoptosis celular. Las estatinas disminuyen la concentración del geranilgeranilo, seguida de un incremento de proteínas no geranilgeranilizadas (proteínas biológicamente inactivas) que no logran unirse a la membrana celular, provocando de este modo la apoptosis celular ^(40, 41) (Figura 5).

Este mecanismo de apoptosis causado por las estatinas esta mediado por la disminución de la geranilgeranilización de la proteína Ras lo que impide activar a ERK y AKT, inhibidores naturales de Caspasa 3. Esta caspasa al no tener inhibición queda libre para inducir apoptosis ⁽⁴²⁻⁴⁵⁾ (Figura 6).

También, se ha demostrado la implicación potencial de Bcl-xL en la apoptosis inducida por inhibidores de la HMG-CoA. Estos resultados

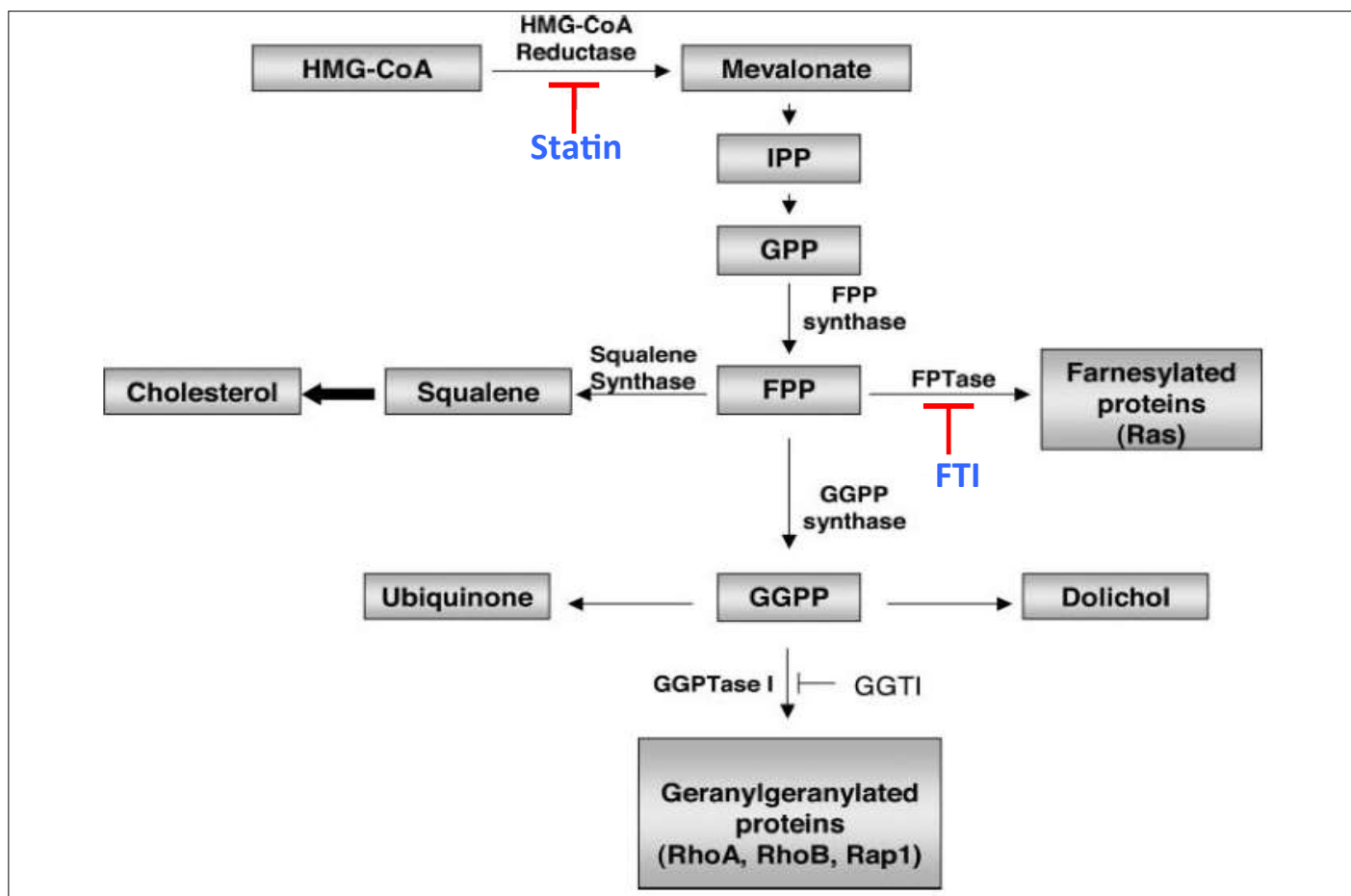


Figura 2. Mecanismo molecular de las estatinas y el tipifarnib. El tipifarnib, inhibidor específico de la farnesilación de las proteínas. Las estatinas, inhibidores de los productos finales de la vía del mevalonato. (Sumaya N. JPET 2006;316:403-409).

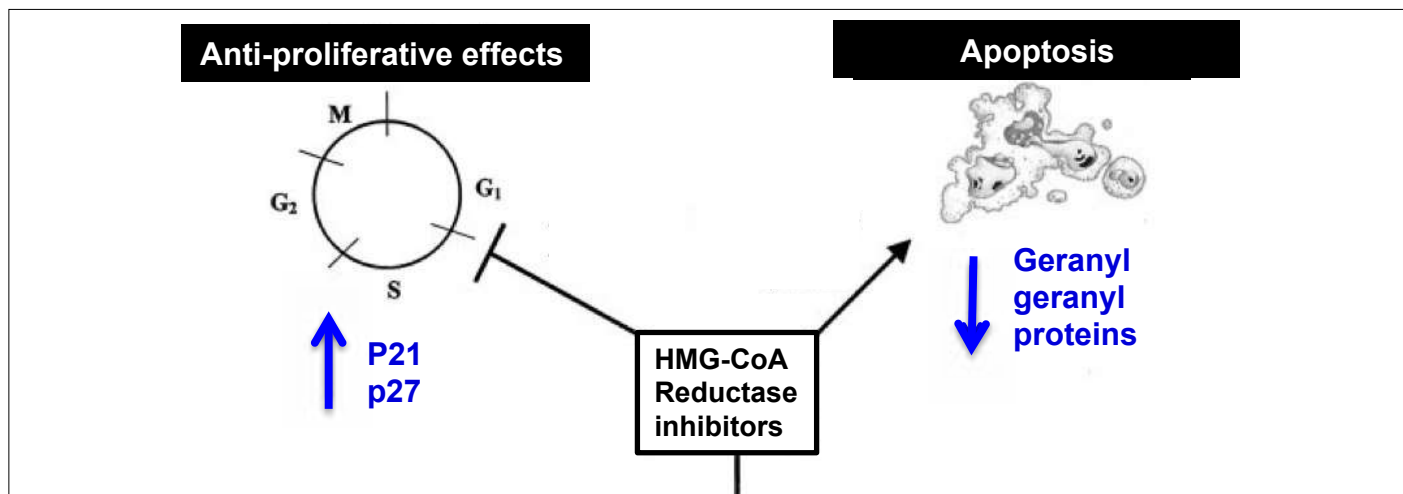


Figura 3. Acción farmacológica de las estatinas. Los inhibidores de la enzima HMG-CoA reductasa disminuyen las proteínas geranilizadas induciendo apoptosis celular, y el aumento de p21 y p27 inhibe la proliferación celular. (Chan K. Clinical cancer research. 2003;9(1):10-19).

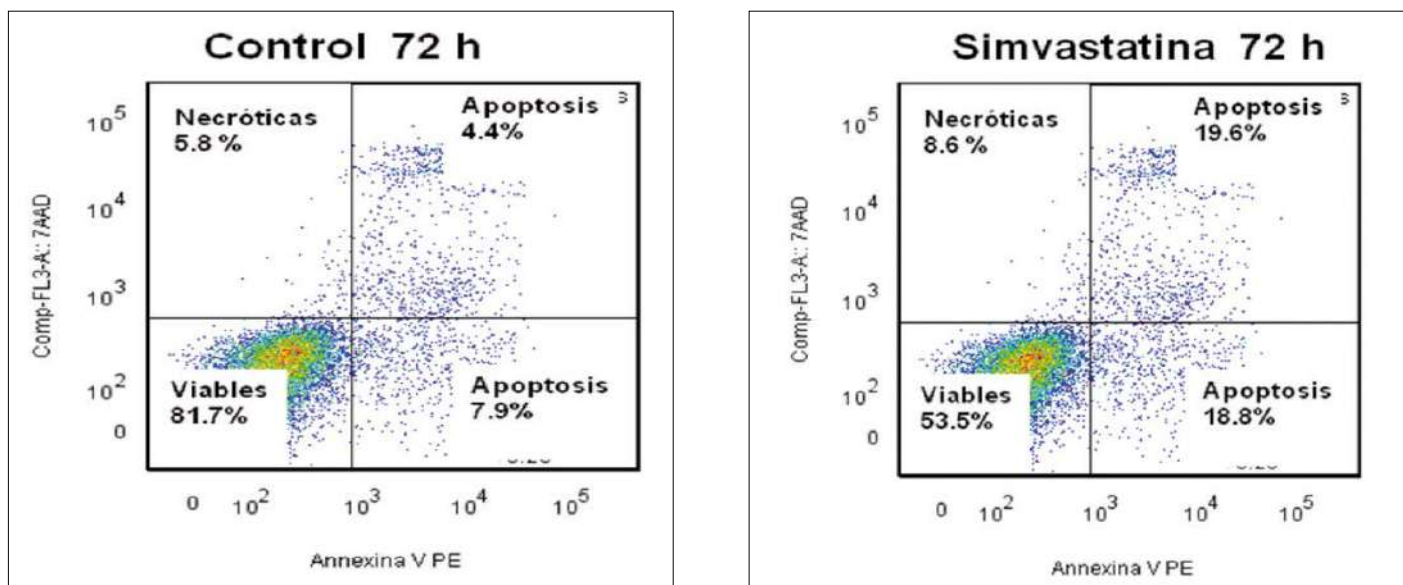


Figura 4. Acción de las estatinas en la inducción de apoptosis de progenitores eritroides. Las células progenitoras hematopoyéticas (CPH) de médula ósea de 10 pacientes con EPA fueron cultivadas en medio líquido con suplementos de eritropoyetina y eritropoyetina más simvastatina. La valoración de células se realizó a las 72 horas. Las diferencias de apoptosis con y sin simvastatina son estadísticamente diferentes ($p=0.001$).

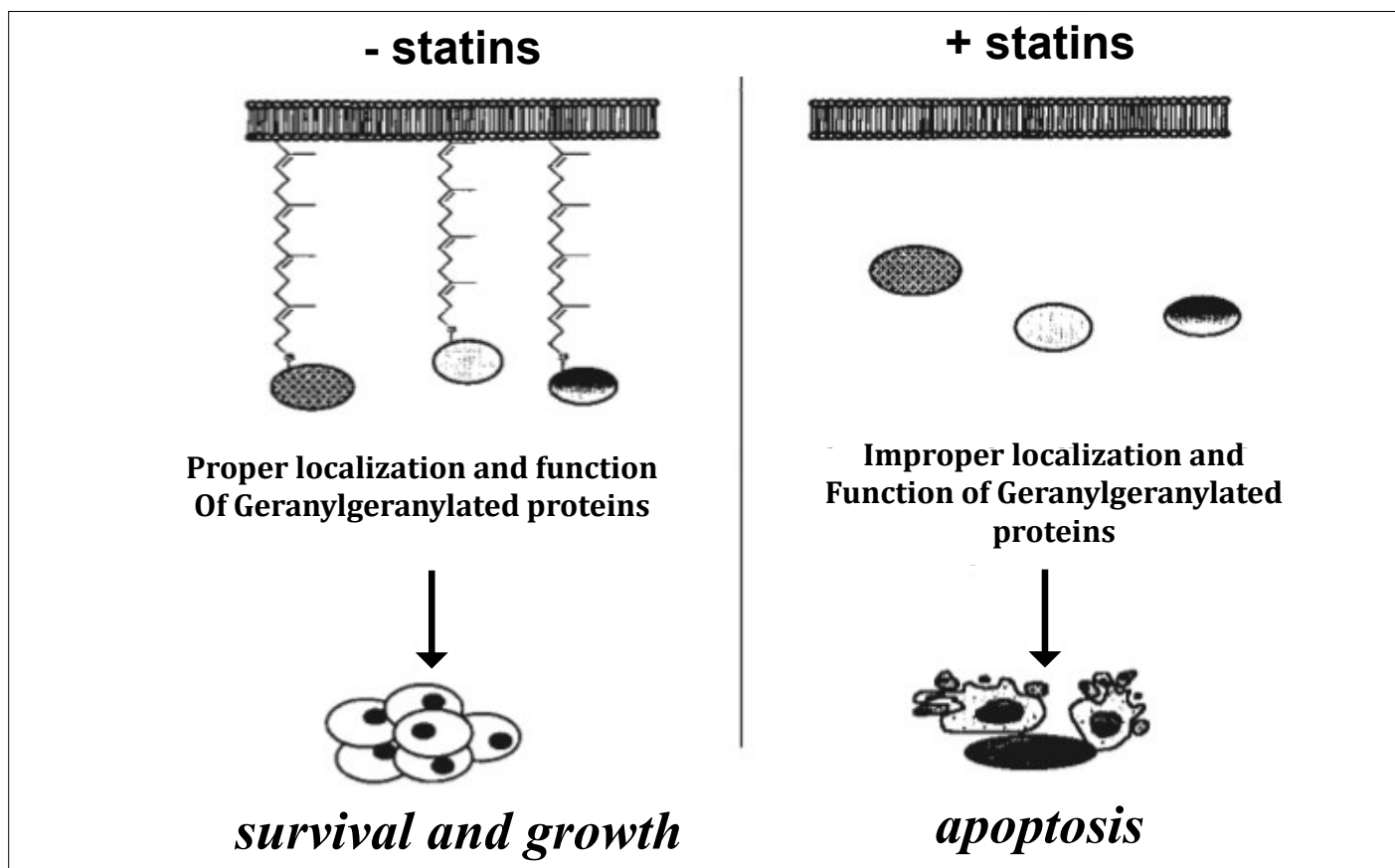


Figura 5. Inhibición de la isoprenilación de proteínas. A la izquierda, proteínas geranylgeranilizadas biológicamente activas. A la derecha, proteínas no geranylgeranilizadas biológicamente inactivas. (Wong W. Leukemia.2002;16:508-519).

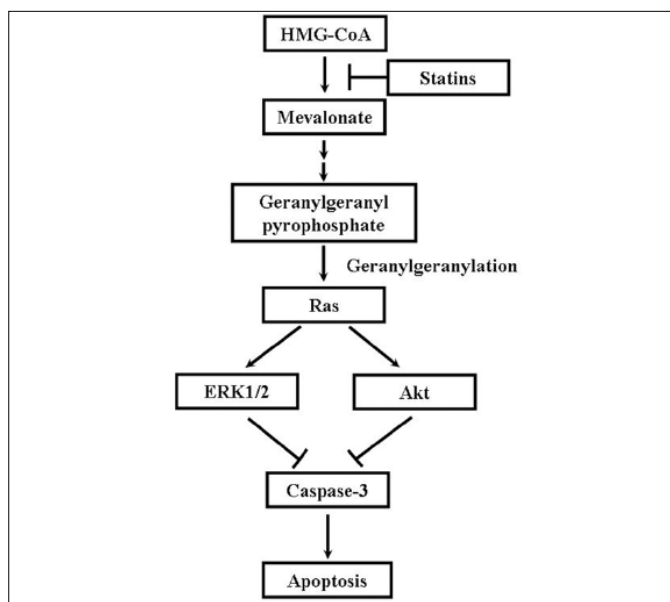


Figura 6. Estatinas en la inducción de la apoptosis. Las estatinas inducen apoptosis via BCL-xL y Caspasa 9 debido a la inhibición de la geranylgeranilización. (Blanco-Colio LM. *Kidney International* 2003; 64:181-191).

pueden estar relacionados con los efectos apoptóticos producidos por la simvastatina en nuestros modelos celulares ⁽⁴⁵⁻⁴⁷⁾. Figura 7.

Las estatinas inducen el incremento de la proteína p27, y éste a la vez bloquea la ciclina A/Cdk2 seguida de la inducción de la apoptosis ^(44, 48) (Figura 8).

2) Inhibición de la proliferación celular

También en nuestros experimentos se observó que los progenitores suplementados con Simvastatina en medio de metilcelulosa inhibieron la proliferación de BFU-E en un 51.2% (de 213 a 104 BFU-E) en controles normales, un 47.3 % (de 334 a 176 BFU-E) pacientes con EPA, 33.2% (de 368 a 246 BFU-E) en pacientes con ES y 62.1% (de 367 a 139 BFU-E) en pacientes con PV. Figura 9.

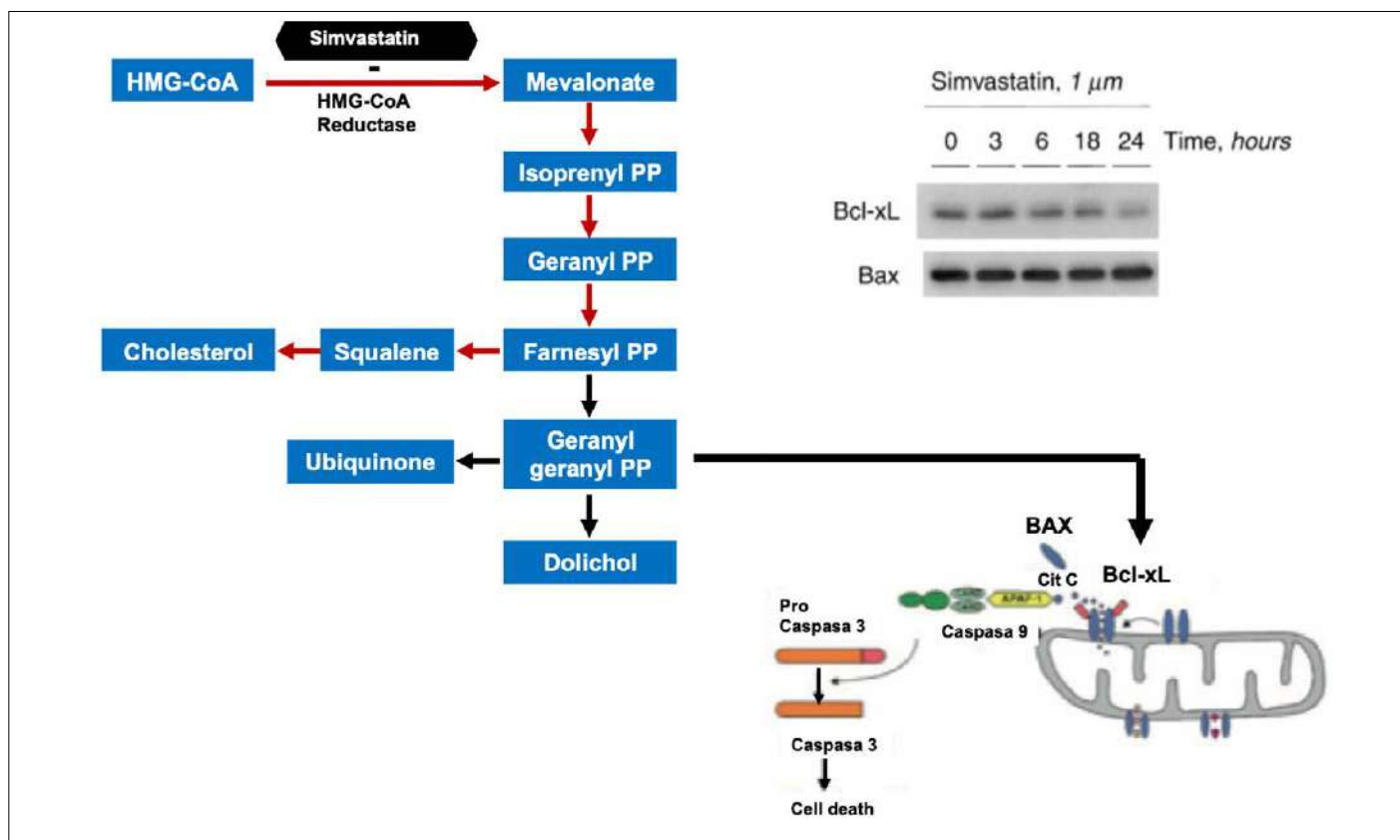


Figura 7. Inducción de la apoptosis vía BCL-xL y Caspasa 9 por las estatinas. Las estatinas a través de la inhibición del geranylgeranilo inducen apoptosis via BCL-xL y Caspasa 9. (Blanco. Blanco-Colio LM. *Kidney International* 2003; 64:181-191).

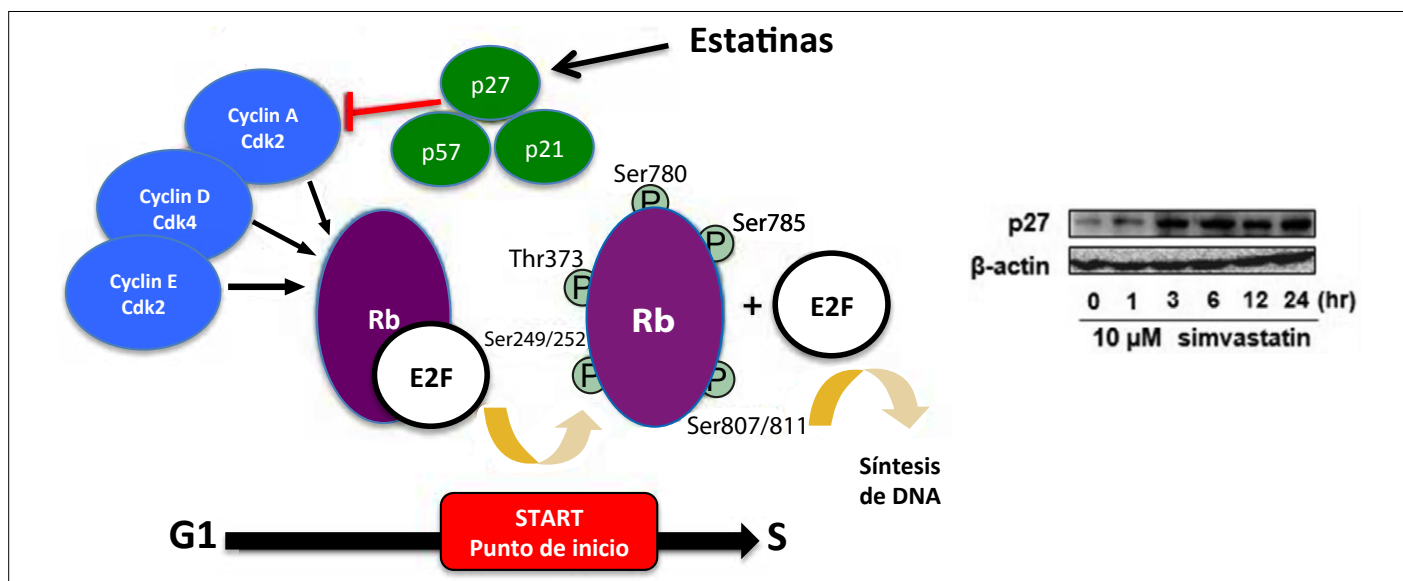


Figura 8. Mecanismo molecular de las estatinas e inducción de apoptosis. Se muestra la implicación potencial de Bcl-xL en la apoptosis inducida por inhibidores de la HMG- CoA. Estos resultados pueden estar relacionados con los efectos apoptóticos producidos por la simvastatina en nuestros modelos celulares. (Fujiwara D. Tumor Biology. 2017;39(10):1-12).

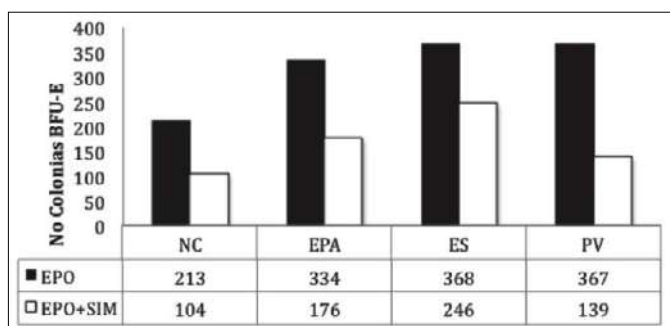


Figura 9. Acción de las estatinas en la inhibición de la proliferación de BFU-E de progenitores eritroides.

3) Inhibición de la diferenciación celular

A este respecto, nuestros experimentos permitieron evidenciar que, los progenitores eritroides suplementados con simvastatina en medio de metilcelulosa presentaron colonias BFU-E de características pequeñas y disminución de hemoglobinización. Figura 10.

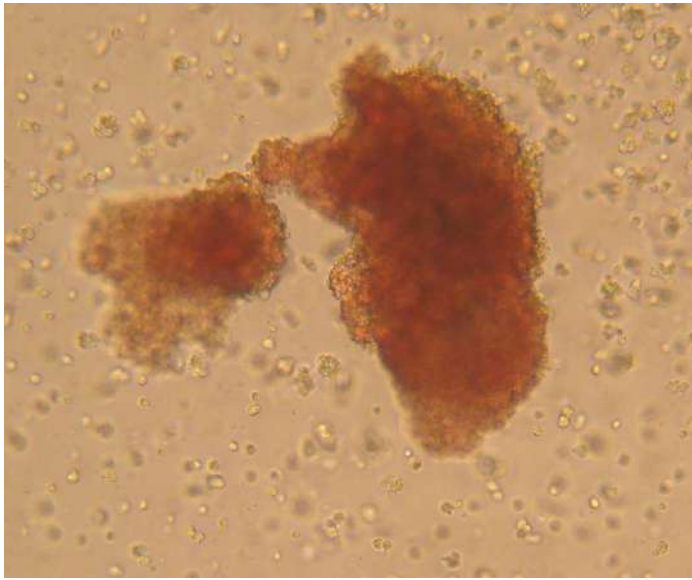
4) Bloqueo de la isoprenilación de las proteínas Rho y Ras

Las estatinas al inhibir la enzima HMG-CoA reductasa bloquean la vía del mevalonato y de este modo evitan la isoprenilación de las proteínas Rho y Ras. La proteína Rho se isoprenila con el

geranilgeranilo y la proteína Ras con el farnesilo. La proteína Rho sin geranilgeranilo y la proteína Ras sin farnesilo se inactivan y no logran anclarse en la membrana bilipídica y se acumulan en el citosol, de esta manera se bloquean los señales de proliferación y diferenciación de los progenitores eritroides, seguido de la disminución de la eritropoyesis⁽⁴⁹⁻⁵¹⁾. La geranilgeranilación juega un papel importante en la modificación de proteínas G de la familia Rho, que completan un ciclo entre un estado activo unido a GTP y un estado inactivo unido a GDP. La unión del geranilgeranilo al motivo CAAX en el extremo carboxilo terminal de la pequeña proteína G es importante para la localización de la membrana y por lo tanto, la función biológica.

La inhibición de las estatinas en la geranilgeranilación de las proteínas induce la apoptosis en varios tipos de células e inhibe la transducción de señales de la Epo, podría explicar en parte el efecto apoptótico de los progenitores eritroides^(42, 45, 52), también la inhibición de la farnesilación de la proteína Ras bloquea la supervivencia de las células⁽⁵³⁻⁵⁵⁾ (Figura 11).

Epo 2 UI/ml



Epo 2UI/ml, Simv 6 uM/ml

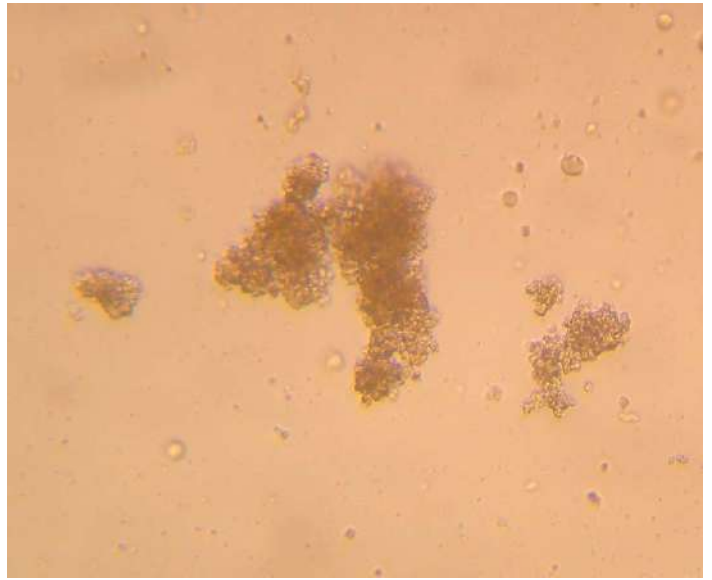


Figura 10. Acción de las estatinas en la inhibición de la diferenciación de BFU-E de progenitores eritroides. Colonias de BFU-E observadas a los 14 días de cultivo con y sin simvastatina. La colonia BFU-E presenta hemoglobinización y tamaño de acuerdo a lo esperado; mientras, que la colonia con simvastatina no presenta hemoglobinización y el tamaño de la colonia esta disminuida.

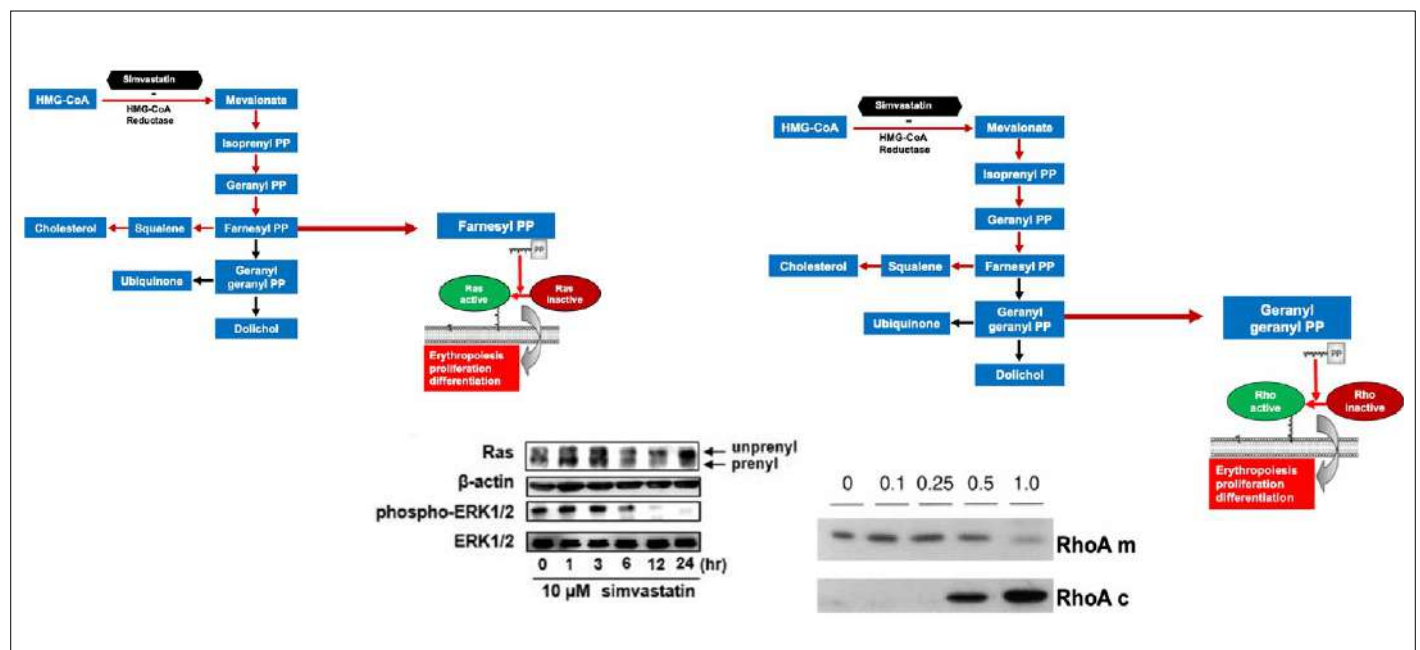


Figura 11. Bloqueo de la isoprenilación de las proteínas RAS y Rho. Se observa la inhibición de la HMG-CoA reductasa seguida de la inhibición de la geranylgeranilización de la proteína Rho y la farnesilación de la proteína Ras. Las proteínas Rho y Ras no logran anclarse en la membrana bilipídica, bloqueando las señales de proliferación y diferenciación de los progenitores eritroides. También se observa un Western blot con anticuerpos anti Rho a concentraciones de 0.5 y 1 mM de simvastatina, la proteína RhoAc esta incrementada en el citoplasma. (Weber M. Nature Reviews Neurology. 2005;1:106-112), (Boddu P. Blood Reviews. 2017;32:1-10), (Fujiwara D. Tumor biology. 2017;10:1-12).

5) Inhibición de la fosforilación de Jak2 y Stat5

Las estatinas disminuyen la fosforilación de JAK2 y Stat-5 seguido del bloqueo de la señal de la eritropoyetina para la proliferación y supervivencia de la serie eritroide. El Stat-5 en ratones knockout sugiere fuertemente que el efecto antiapoptótico de este factor de transcripción en las células eritroides se ejerce a nivel de las células eritroides inmaduras y está mediada principalmente a través de la modulación de Bcl-xL ^(56, 57). El Stat-5a y Bcl-xL presentan aumento progresivo de la expresión durante la diferenciación de BFU-E de CFU-E, y disminución rápida y marcada en etapas posteriores de la maduración. Es de interés señalar que la deficiencia Stat-5 también induce una muerte prematura de los precursores mieloides,

que parece estar relacionado con una disminución de Bcl-2 y Bcl-XL ^(36, 40, 58) (Figura 12).

6) Inhibición de la glicosilación del Receptor de la Eritropoyetina (EpoR)

La inhibición de la HMG-CoA bloquea la síntesis del dolicol, y sin el dolicol no es posible la glicosilación del receptor de la eritropoyetina (EpoR) y la EpoR no glicosilado no migran a la membrana celular y disminuyen la concentración de EpoR a nivel de la membrana celular, por lo tanto bloquea la acción de la eritropoyetina. La tunicamicina, un inhibidor de glicosilación también suprime parcialmente la expresión de la Epo R en la superficie de la membrana celular de la línea eritroide ^(36, 39). Figura 13.

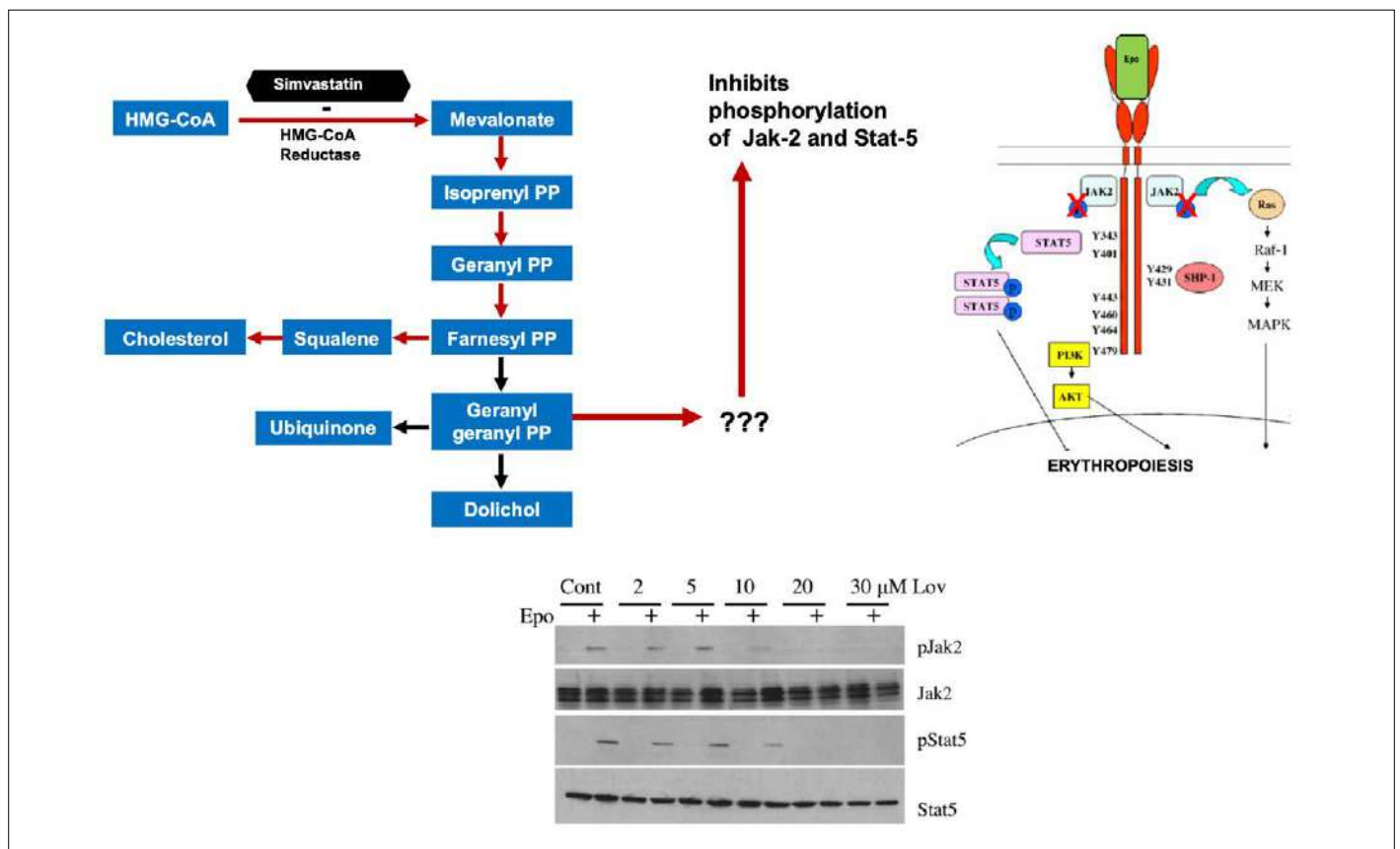


Figura 12. Inhibición de la fosforilación de Jak-2 y Stat-5 por las estatinas. La HMG-CoA reductasa es inhibida por la estatina disminuyendo así la síntesis de geranylgeranilo PP y la fosforilación de Jak-2 y Stat-5, bloqueando la proliferación celular. También un Western blot muestra la inhibición de la fosforilación de Jak-2 y Stat-5 a distintas concentraciones de estatina. (Hamadmad S. The Journal of Pharmacology and experimental therapeutics. 2006;316(1):403-409), (Lory G. British journal of haematology. 2013;160(2):177-187).

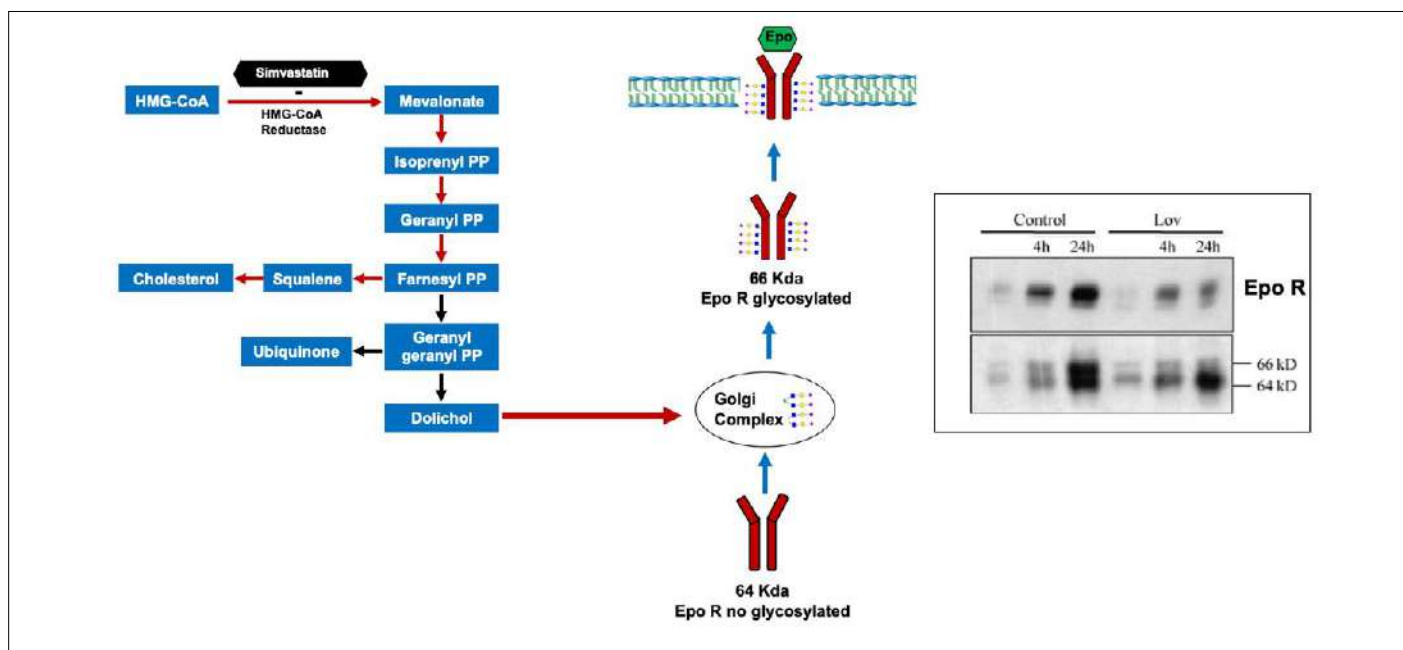


Figura 13. Inhibición de la glicosilación del EpoR por las estatinas. La inhibición de la HMG CoA bloquea la síntesis del dolicol seguido de la inhibición de la glicosilación del receptor de la eritropoyetina (EpoR), de ese modo los EpoR no glicosilados no migran a la membrana celular y disminuyen la concentración de EpoR a nivel de la membrana celular; por lo tanto, bloquea la acción de la eritropoyetina. Se observa un Western blott con la disminución de la EpoR glicosiladas (66 KD) y aumento de EpoR no glicosilados (64 KD) por acción de las estatinas. (Hamadmad S. Biochemical pharmacology. 2007;74(4):590-600).

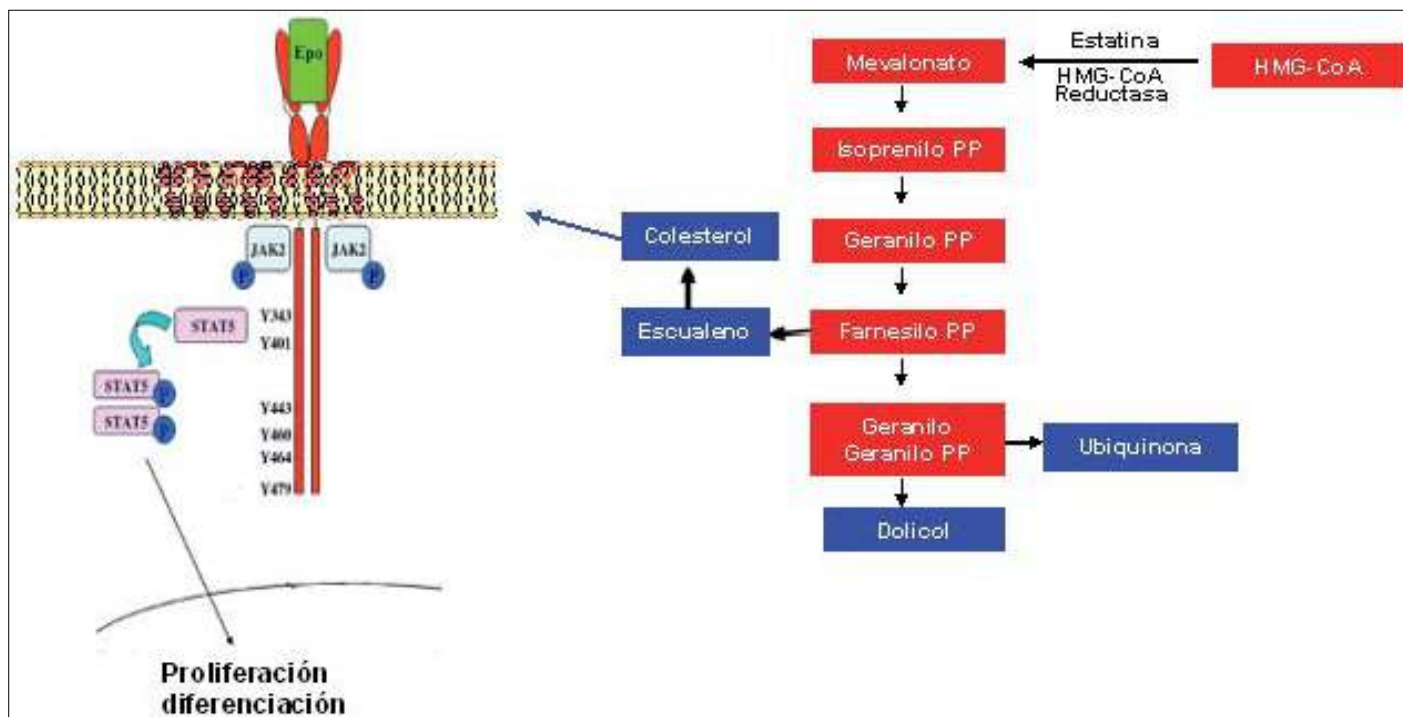


Figura 14. Alteraciones de microdominios Lipid Raft. Las estatinas reducen la concentración de JAK-2 en microdominios de las balsas lipídicas (lipid rafts), por lo tanto existen pocos receptores de EpoR y JAK-2 y el mensaje de la Epo-EpoR disminuye. (Griner LN. British journal of haematology. 2013;160(2):177-187).

7) Alteración de dominios Lipid Raft

Las estatinas inhiben la velocidad de la enzima, HMG-CoA reductasa, en la vía del mevalonato, reduciendo la biosíntesis de colesterol intracitoplasmático seguido de la alteración de las balsas de lípidos (lipid rafts) alterando de este modo el anclamiento de EpoR. La disminución de EpoR en estos microdominios podría afectar a la señalización dependiente de JAK-2 en las balsas de lípidos y la localización de Jak-2. Recientemente se ha demostrado que la señalización de EpoR/JAK2 requiere el anclamiento de EpoR en microdominios lipid raft ^(26, 59, 60). Figura 14.

8) Inhibición la expresión de ROCK1 y ROCK2

Estudios realizados por otros autores, señalan que la hipoxia en ratones produce hipertensión arterial pulmonar a través de la expresión de cinasas asociadas a Rho (ROCK) activada por el Rho. El ROCK a la vez fosforila a cadena ligera de la miosina (MLC, Myosin Light Chain) seguida de la contracción de las fibras de actina y la contracción de las células vasculares del músculo liso. Las estatinas inhiben el Rho y la ROCK y esto podría atenuar e inducir la regresión del Hipertensión Arterial Pulmonar establecido a través de la inhibición de la HMG-CoA reductasa (Figura 15).

La inhibición de la expresión y actividad de ROCK puede ser un mecanismo importante del efecto de las estatinas para el tratamiento de la Hipertensión Arterial Pulmonar asociado a las eritrocitosis patológicas ⁽⁶¹⁻⁶⁵⁾.

ACCIÓN DE LAS ESTATINAS EN EL METABOLISMO CELULAR

Finalmente, toda esta información nos permite establecer un resumen de los mecanismos de acción molecular de las estatinas en el metabolismo celular, propiamente en la inhibición de la proliferación, diferenciación e inducción de la apoptosis celular ⁽⁶⁶⁾ (Figura 16).

CONCLUSIONES

La proliferación, diferenciación y apoptosis celular está regulada por un complejo mecanismo

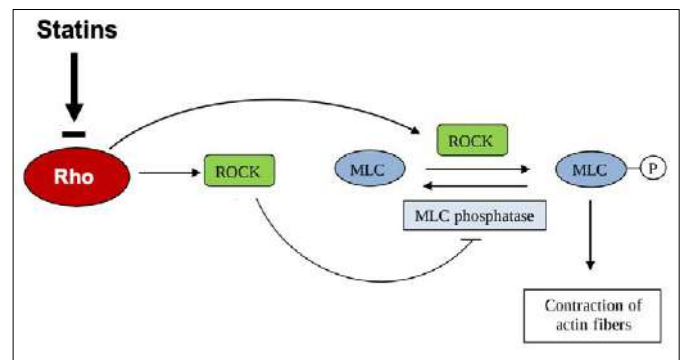


Figura 15. Rol y regulación de Rock en la hipertensión arterial pulmonar. Las estatinas inhiben a la proteína Rho y causando una disminución de la proteína ROCK, seguido de la MLC no fosforilado (no activo) y como resultado final la contracción de las fibras de actina disminuye. (Oka M. British journal of pharmacology. 2008;155:444-54).

molecular donde los productos finales de la vía del mevalonato juegan un rol importante ^(8, 41, 67, 68); esto hace que exista un interés especial en los fármacos que inhiben esta vía permitiendo así, diseñar protocolos de tratamiento en enfermedades cuya etiología está relacionada con la alteración del metabolismo celular, como por ejemplo en las neoplasias y las eritrocitosis patológicas ⁽⁶⁹⁻⁷¹⁾.

Las estatinas son inhibidores de la vía del mevalonato, involucrado en la regulación de la eritropoyesis. Inhiben la enzima HMG-CoA reductasa, bloquean la vía del mevalonato reduciendo la concentración de sus productos derivados tales como el farnesil, el geranil, el dolicol y otros; donde gracias a la reducción de los productos de la vía del mevalonato, la eritropoyesis disminuye y la apoptosis de la serie eritroide se incrementa, reflejándose en la clínica por la disminución de la hemoglobina y hematocrito.

Además, uno de los efectos pleiotrópicos recientemente descritos de las estatinas es su capacidad para prevenir el acortamiento de los telómeros. Las observaciones preliminares pueden proporcionar bases para usar estatinas como activadores de telomerasa y geroprotectores efectivos ^(72, 73), lo cual favorecería a los pacientes con eritrocitosis considerando que la mayoría de ellos suelen tener más de 50 años.

Por todo lo descrito anteriormente, las estatinas se constituyen en un medicamento de primera línea que debería de usarse en pacientes con

eritrocitosis patológicas, incluso en la Policitemia Vera como medicamento coadyuvante al tratamiento estándar (26, 74, 75).

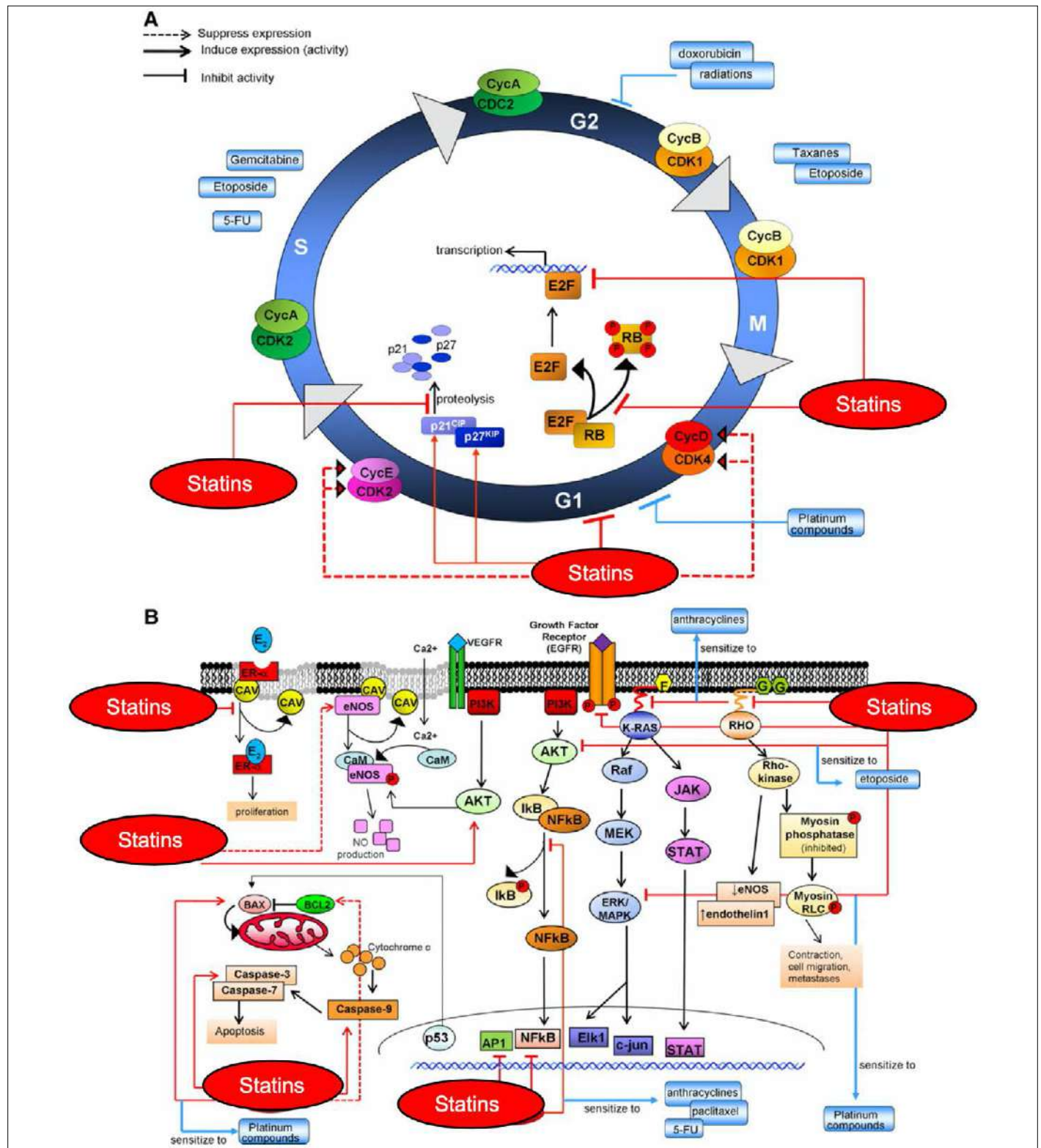


Figura 16. Acción de las estatinas en el metabolismo celular. Esquema sobre el mecanismo de acción de las estatinas sobre las vías del metabolismo celular para la regulación positiva y negativa en la inhibición de la proliferación, diferenciación e inducción de la apoptosis celular. (Gazzerro P. Pharmacological Reviews. 2012;64:102-146)

Referencias

1. Amaru R, Amaru A, Miguez H, Gina T, Mamani J, Vera O, et al. Bolivian aymara natives with chronic mountain sickness have autonomous bfu-e growth. *Blood*. 2015;126:5206.
2. Amaru R, Quispe T, Torres G, Mamani J, Aguilar M, Miguez H, et al. Caracterización clínica de la eritrocitosis patológica de altura. *Revista de Hematología*. 2016;17(1):8-20.
3. Amaru R, Villarroel M, Miguez H, Peñaloza R, Torres G, Barbui T, et al. Hematopoietic Progenitor Cells From Patients with Chronic Mountain Sickness Lack the JAK2V617F Mutation, Show Hypersensitivity to Erythropoietin and Are Inhibited by Statins. *American Society of Hematology*; 2009.
4. Ahmadi Y, Ghorbanihaghjo A, Argani H. The balance between induction and inhibition of mevalonate pathway regulates cancer suppression by statins: A review of molecular mechanisms. *Chemico-biological interactions*. 2017;273:273-85.
5. Oesterle A, Laufs U, Liao JK. Pleiotropic effects of statins on the cardiovascular system. *Circulation research*. 2017;120(1):229-43.
6. Matusiewicz L, Meissner J, Toporkiewicz M, Sikorski AF. The effect of statins on cancer cells. *Tumor Biology*. 2015;36(7):4889-904.
7. Miettinen TP, Björklund M. Mevalonate pathway regulates cell size homeostasis and proteostasis through autophagy. *Cell reports*. 2015;13(11):2610-20.
8. Göbel A, Rauner M, Hofbauer LC, Rachner TD. Cholesterol and beyond-The role of the mevalonate pathway in cancer biology. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*. 2020:188351.
9. Buhaescu I, Izzedine H. Mevalonate pathway: a review of clinical and therapeutical implications. *Clinical biochemistry*. 2007;40(9-10):575-84.
10. Crosbie J, Magnussen M, Dornbier R, Iannone A, Steele TA. Statins inhibit proliferation and cytotoxicity of a human leukemic natural killer cell line. *Biomarker research*. 2013;1(1):33.
11. Thurnher M, Nussbaumer O, Gruenbacher G. Novel aspects of mevalonate pathway inhibitors as antitumor agents. *Clinical Cancer Research*. 2012;18(13):3524-31.
12. Massy ZA, Keane WF, Kasiske BL. Inhibition of the mevalonate pathway: benefits beyond cholesterol reduction? *The Lancet*. 1996;347(8994):102-3.
13. Kavalipati N, Shah J, Ramakrishnan A, Vasawala H. Pleiotropic effects of statins. *Indian journal of endocrinology and metabolism*. 2015;19(5):554.
14. Krečak I, Holik H, Morić-Perić M, Zekanović I, Coha B, Gverić-Krečak V. The impact of statins on the intensity of phlebotomies in polycythemia vera. *Annals of Hematology*. 2020;99(4):911-2.
15. Lavu S, Therneau TM, Harmsen WS, Mara KC, Wongjarupong N, Hassan M, et al. Effect of Statins on the Risk of Extrahepatic Cholangiocarcinoma. *Hepatology*. 2020.
16. Hasegawa T, Zhao J, Fuller DS, Bieber B, Zee J, Morgenstern H, et al. Erythropoietin hyporesponsiveness in dialysis patients: Possible role of statins. *American journal of nephrology*. 2017;46(1):11-7.
17. Wu H, Liu X, Jaenisch R, Lodish HF. Generation of committed erythroid BFU-E and CFU-E progenitors does not require erythropoietin or the erythropoietin receptor. *Cell*. 1995;83(1):59-67.
18. Psaila B, Barkas N, Iskander D, Roy A, Anderson S, Ashley N, et al. Single-cell profiling of human megakaryocyte-erythroid progenitors identifies distinct megakaryocyte and erythroid differentiation pathways. *Genome biology*. 2016;17(1):83.
19. Palis J, Koniski A. Functional analysis of erythroid progenitors by colony-forming assays. *Erythropoiesis*: Springer; 2018. p. 117-32.
20. Fajtova M, Kovarikova A, Svec P, Kankuri E, Sedlak J. Immunophenotypic profile of nucleated erythroid progenitors during maturation in regenerating bone marrow. *Leukemia & lymphoma*. 2013;54(11):2523-30.
21. Gore CJ, Rodríguez FA, Truijens MJ, Townsend NE, Stray-Gundersen J, Levine BD. Increased serum erythropoietin but not red cell production after 4 wk of intermittent hypobaric hypoxia (4,000–5,500 m). *Journal of Applied Physiology*. 2006;101(5):1386-93.
22. Aispuru GR, Aguirre MV, Aquino-Esperanza JA, Lettieri CN, Juaristi JA, Brandan NC. Erythroid expansion and survival in response to acute anemia stress: The role of EPO receptor, GATA-1, Bcl-xL and caspase-3. *Cell biology international*. 2008;32(8):966-78.
23. Maruyama K, Miyata K, Yoshimura A. Proliferation and erythroid differentiation through the cytoplasmic domain of the erythropoietin receptor. *Journal of Biological Chemistry*. 1994;269(8):5976-80.
24. Kuhrt D, Wojchowski DM. Emerging EPO and EPO receptor regulators and signal transducers. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2015;125(23):3536-41.

25. Kang S, Kim E-S, Moon A. Simvastatin and lovastatin inhibit breast cell invasion induced by H-Ras. *Oncology reports*. 2009;21(5):1317-22.
26. Hasselbalch HC, Riley CH. Statins in the treatment of polycythaemia vera and allied disorders: an antithrombotic and cyto-reductive potential? *Leukemia research*. 2006;30(10):1217-25.
27. Larghero J, Gervais N, Cassinat B, Rain J-D, Schlageter M-H, Padua RA, et al. Farnesyltransferase inhibitor tipifarnib (R115777) preferentially inhibits in vitro autonomous erythropoiesis of polycythemia vera patient cells. *Blood*. 2005;105(9):3743-5.
28. Kotsianidis I, Nakou E, Bouchliou I. pharmacotherapy of Hematologic Malignancies with Tipifarnib. *Clinical Medicine Therapeutics*. 2009;1:CMT. S1097.
29. Lancet JE, Gojo I, Gotlib J, Feldman EJ, Greer J, Liesveld JL, et al. A phase 2 study of the farnesyltransferase inhibitor tipifarnib in poor-risk and elderly patients with previously untreated acute myelogenous leukemia. *Blood*. 2007;109(4):1387-94.
30. Alsina M, Fonseca R, Wilson EF, Belle AN, Gerbino E, Price-Troska T, et al. Farnesyltransferase inhibitor tipifarnib is well tolerated, induces stabilization of disease, and inhibits farnesylation and oncogenic/tumor survival pathways in patients with advanced multiple myeloma. *Blood*. 2004;103(9):3271-7.
31. Fenaux P, Raza A, Mufti GJ, Aul C, Germing U, Kantarjian H, et al. A multicenter phase 2 study of the farnesyltransferase inhibitor tipifarnib in intermediate-to high-risk myelodysplastic syndrome. *Blood*. 2007;109(10):4158-63.
32. Gualberto A, Scholz CR. Methods of treating cancer with farnesyltransferase inhibitors. Google Patents; 2020.
33. Caimi Martínez F, Strada B. Reincidencia de eventos coronarios: disfunción endotelial como mediadora. *Revista Uruguaya de Cardiología*. 2020;35(1):349-59.
34. Shen L, Gu Y, Qiu Y, Cheng T, Nie A, Cui C, et al. Atorvastatin targets the islet mevalonate pathway to dysregulate mTOR signaling and reduce β -cell functional mass. *Diabetes*. 2020;69(1):48-59.
35. Jahn A, Scherer B, Fritz G, Honnen S. Statins Induce a DAF-16/Foxo-dependent Longevity Phenotype via JNK-1 through Mevalonate Depletion in *C. elegans*. *Aging and disease*. 2020;11(1):60.
36. Hamadmad SN, Henry MK, Hohl RJ. Erythropoietin receptor signal transduction requires protein geranylgeranylation. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 2006;316(1):403-9.
37. Vitek L, Lenicek M. Cytoprotective and antiproliferative effects of HMG-CoA reductase inhibitors. *Current Enzyme Inhibition*. 2006;2(3):261-80.
38. Chan KK, Oza AM, Siu LL. The statins as anticancer agents. *Clinical cancer research*. 2003;9(1):10-9.
39. Hamadmad SN, Hohl RJ. Lovastatin suppresses erythropoietin receptor surface expression through dual inhibition of glycosylation and geranylgeranylation. *Biochemical pharmacology*. 2007;74(4):590-600.
40. Wong WW, Dimitroulakos J, Minden M, Penn L. HMG-CoA reductase inhibitors and the malignant cell: the statin family of drugs as triggers of tumor-specific apoptosis. *Leukemia*. 2002;16(4):508-19.
41. Wang I-H, Huang T-T, Chen J-L, Chu L-W, Ping Y-H, Hsu K-W, et al. Mevalonate Pathway Enzyme HMGCS1 Contributes to Gastric Cancer Progression. *Cancers*. 2020;12(5):1088.
42. Yanae M, Tsubaki M, Satou T, Itoh T, Imano M, Yamazoe Y, et al. Statin-induced apoptosis via the suppression of ERK1/2 and Akt activation by inhibition of the geranylgeranyl-pyrophosphate biosynthesis in glioblastoma. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*. 2011;30(1):74.
43. Afshordel S, Kern B, Clasohm J, König H, Priester M, Weissenberger J, et al. Lovastatin and perillyl alcohol inhibit glioma cell invasion, migration, and proliferation—Impact of Ras-/Rho-prenylation. *Pharmacological research*. 2015;91:69-77.
44. Fujiwara D, Tsubaki M, Takeda T, Tomonari Y, Koumoto Y-i, Sakaguchi K, et al. Statins induce apoptosis through inhibition of Ras signaling pathways and enhancement of Bim and p27 expression in human hematopoietic tumor cells. *Tumor Biology*. 2017;39(10):1010428317734947.
45. Blanco-Colio LM, Justo P, Daehn I, Lorz C, Ortiz A, Egido J. Bcl-xL overexpression protects from apoptosis induced by HMG-CoA reductase inhibitors in murine tubular cells. *Kidney international*. 2003;64(1):181-91.
46. Ma J, Ji L, Li Z, Liu H, Zhao C, Xiong H, et al. Downregulation of intrinsic apoptosis pathway in erythroblasts contributes to excessive erythrocytosis of chronic mountain sickness. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*. 2019;76:25-31.
47. Blanco-Colio LM, Villa A, Ortego M, Hernández-Presa MA, Pascual A, Plaza JJ, et al. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors, atorvastatin and

- simvastatin, induce apoptosis of vascular smooth muscle cells by downregulation of Bcl-2 expression and Rho A prenylation. *Atherosclerosis*. 2002;161(1):17-26.
48. Wang S-T, Ho HJ, Lin J-T, Shieh J-J, Wu C-Y. Simvastatin-induced cell cycle arrest through inhibition of STAT3/SKP2 axis and activation of AMPK to promote p27 and p21 accumulation in hepatocellular carcinoma cells. *Cell death & disease*. 2017;8(2):e2626-e.
 49. Feldt M, Bjarnadottir O, Kimbung S, Jirström K, Bendahl P-O, Veerla S, et al. Statin-induced anti-proliferative effects via cyclin D1 and p27 in a window-of-opportunity breast cancer trial. *Journal of translational medicine*. 2015;13(1):133.
 50. Derk CT. Inhibition of geranyl-geranyl prenylation by statins: A novel model of disease modification of systemic sclerosis. *Letters in Drug Design & Discovery*. 2006;3(3):183-7.
 51. Yi Z, Ke J, Wang Y, Cai K. Fluvastatin protects myocardial cells in mice with acute myocardial infarction through inhibiting RhoA/ROCK pathway. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2020;19(3):2095-102.
 52. Denoyelle C, Vasse M, Körner M, Mishal Z, Ganné F, Vannier J-P, et al. Cerivastatin, an inhibitor of HMG-CoA reductase, inhibits the signaling pathways involved in the invasiveness and metastatic properties of highly invasive breast cancer cell lines: an in vitro study. *Carcinogenesis*. 2001;22(8):1139-48.
 53. Brinkkoetter PT, Gottmann U, Schulte J, Van Der Woude F, Braun C, Yard B. Atorvastatin interferes with activation of human CD4+ T cells via inhibition of small guanosine triphosphatase (GTPase) activity and caspase-independent apoptosis. *Clinical & Experimental Immunology*. 2006;146(3):524-32.
 54. Weber MS, Prod'homme T, Steinman L, Zamvil SS. Drug Insight: using statins to treat neuroinflammatory disease. *Nature Clinical Practice Neurology*. 2005;1(2):106-12.
 55. Kamel WA, Sugihara E, Nobusue H, Yamaguchi-Iwai S, Onishi N, Maki K, et al. Simvastatin-induced apoptosis in osteosarcoma cells: a key role of RhoA-AMPK/p38 MAPK signaling in antitumor activity. *Molecular cancer therapeutics*. 2017;16(1):182-92.
 56. Sandoval-Usme MC, Umaña-Pérez A, Guerra B, Hernandez-Perera O, García-Castellano JM, Fernandez-Perez L, et al. Simvastatin impairs growth hormone-activated signal transducer and activator of transcription (STAT) signaling pathway in UMR-106 osteosarcoma cells. *PloS one*. 2014;9(1).
 57. Sandoval Usme MC. Mecanismos moleculares de las estatinas sobre el cáncer: Universidad Nacional de Colombia; 2012.
 58. Hunt EG, Fang D, Rovini A, Christie CF, Heslop KA, Maldonado EN. Therapeutic Concentrations of Statins Hyperpolarize Mitochondria and Inhibit Cell Proliferation Without Promoting Cell Death in Hepatocarcinoma Cells. *Biophysical Journal*. 2020;118(3):447a.
 59. Griner LN, McGraw KL, Johnson JO, List AF, Reuther GW. JAK 2-V 617 F-mediated signalling is dependent on lipid rafts and statins inhibit JAK 2-V 617 F-dependent cell growth. *British journal of haematology*. 2013;160(2):177-87.
 60. Ponce J, de la Ossa NP, Hurtado O, Millan M, Arenillas JF, Dávalos A, et al. Simvastatin reduces the association of NMDA receptors to lipid rafts: a cholesterol-mediated effect in neuroprotection. *Stroke*. 2008;39(4):1269-75.
 61. Girgis RE, Mozammel S, Champion HC, Li D, Peng X, Shimoda L, et al. Regression of chronic hypoxic pulmonary hypertension by simvastatin. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*. 2007;292(5):L1105-L110.
 62. Oka M, Fagan K, Jones P, McMurtry I. Therapeutic potential of RhoA/Rho kinase inhibitors in pulmonary hypertension. *British journal of pharmacology*. 2008;155(4):444-54.
 63. Li M, Li Z, Sun X. Statins suppress MMP2 secretion via inactivation of RhoA/ROCK pathway in pulmonary vascular smooth muscles cells. *European journal of pharmacology*. 2008;591(1-3):219-23.
 64. Wirth A. Rho kinase and hypertension. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*. 2010;1802(12):1276-84.
 65. Amaru R, Vera O, Loza F, Patón D, Carrasco M, Quispe T. Hipertensión Arterial Pulmonar en Pacientes con Eritrocitosis Patológicas. *Revista Médica La Paz*. 2019;25(2):27-35.
 66. Gazzerro P, Proto MC, Gangemi G, Malfitano AM, Ciaglia E, Pisanti S, et al. Pharmacological actions of statins: a critical appraisal in the management of cancer. *Pharmacological reviews*. 2012;64(1):102-46.
 67. Kaymak I, Maier CR, Schmitz W, Campbell AD, Dankworth B, Ade CP, et al. Mevalonate pathway provides ubiquinone to maintain pyrimidine synthesis and survival in p53-deficient cancer cells exposed to metabolic stress. *Cancer research*. 2020;80(2):189-203.

68. Huang B, Song B-l, Xu C. Cholesterol metabolism in cancer: mechanisms and therapeutic opportunities. *Nature Metabolism*. 2020;1-10.
69. Carl Hasselbalch H, Riley CH. The mevalonate pathway as a therapeutic target in the Ph-negative chronic myeloproliferative disorders. *Current drug targets*. 2007;8(2):247-56.
70. Hassanabad AF, Mina F. Targeting the Mevalonate Pathway for Treating Lung Cancer. *American Journal of Clinical Oncology*. 2020;43(1):69-70.
71. Manaswiyoungkul P, de Araujo ED, Gunning PT. Targeting prenylation inhibition through the mevalonate pathway. *RSC Medicinal Chemistry*. 2020.
72. Boccardi V, Barbieri M, Rizzo MR, Marfella R, Esposito A, Marano L, et al. A new pleiotropic effect of statins in elderly: modulation of telomerase activity. *The FASEB Journal*. 2013;27(9):3879-85.
73. Bahrami A, Bo S, Jamialahmadi T, Sahebkar A. Effects of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors on ageing: Molecular mechanisms. *Ageing Research Reviews*. 2020;101024.
74. Amaru R, Amaru A, Miguez H, Torres G, Mamani J, Aguilar M, et al. Successful Treatment of HU-Refractory Polycythemia Vera with Atorvastatin and Low Dose Hydroxyurea. Results from a Pilot Study in Bolivia. *Am Soc Hematology*; 2015.
75. Krečak I, Holik H, Morić-Perić M, Zekanović I, Coha B, Gverić-Krečak V. The impact of statins on the intensity of phlebotomies in polycythemia vera. *Annals of Hematology*. 2020;1-2.

ÁCIDO ACETILSALICÍLICO EN EL TRATAMIENTO DE LAS ERITROCITOSIS PATOLÓGICAS

Amaru Ricardo, Carrasco Mireya, Quispe Teddy, Luna Julieta, Mancilla Silvia, Patón Daniela, Valencia Juan Carlos, Amaru Ariel

Unidad de Biología Celular, Facultad de Medicina, UMSA, La Paz, Bolivia.
Instituto Boliviano de Oncohematología 'Paolo Belli', La Paz, Bolivia.

INTRODUCCIÓN

El ácido acetilsalicílico (ASA), aspirina, fue sintetizado en 1853 y posteriormente empleado en la clínica médica desde el año 1899. Actualmente, el ASA comparte el perfil general de los antiinflamatorios no esteroideos (AINE), de los que se considera es un fármaco prototipo y bien tolerado por su uso extenso ⁽¹⁾.

El mecanismo de acción de la aspirina, común al grupo de los AINE, consiste en la inhibición de la enzima ciclooxigenasa (COX), enzima que interviene en la formación de prostaglandinas a partir del ácido araquidónico, liberado por los fosfolípidos que forman parte de la membrana celular por acción de la fosfolipasa A. La COX-1 cuya expresión es constitutiva está implicada en funciones fisiológicas; mientras que, la COX2 es inducible por procesos inflamatorios y está implicada en estados fisiológicos y patológicos ^(2,3). Sin embargo, la COX-1 y COX-2 comparten un 63 % de la secuencia de aminoácidos, y en sus sitios catalíticos para el ASA difieren solo en dos aminoácidos, pero sus patrones de síntesis y distribución son diferentes, lo que determina su actividad biológica diferente ^(4,5).

La COX-1 se activa a concentraciones elevadas de ácido araquidónico, correspondientes a las observadas cuando se agrega ácido araquidónico de forma exógena o durante la agregación plaquetaria ⁽⁶⁾. Por el contrario, la COX-2 utiliza una baja concentración de ácido araquidónico equivalente a la concentración de ácido araquidónico liberado endógenamente. Es decir, la producción de prostaglandinas a través

de COX-2 está regulada por la activación de fosfolipasas y la expresión del gen COX-2. Muchas citocinas y factores de crecimiento regulan las fosfolipasas y la COX-2, y los corticoides inhiben la inducción de la COX-2.

La proliferación y la diferenciación de la serie roja de la sangre está regulada por un complejo mecanismo molecular donde la proteína NFκB1 (Factor Nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas1) regula los genes del proceso inflamatorio e induce la síntesis de HIF-1α (subunidad alfa del factor 1 inducible por hipoxia) que a su vez induce la síntesis de eritropoyetina y subsecuente aumento de la eritropoyesis, en condiciones fisiológicas. Cuando el ASA interviene en este proceso tiene la propiedad de inhibir a la proteína NFκB1 posibilitando la disminución de eritropoiesis, atribuyéndose así otro rol adicional al de antiagregante plaquetario ^(7,8). Esto ha facultado a la aspirina ser un medicamento útil en el tratamiento de las eritrocitosis; por lo que, concierne a este capítulo ahondar aún más en su acción farmacológica y mecanismos moleculares involucrados.

ACCIÓN FARMACOLÓGICA Y MECANISMOS MOLECULARES

La acción farmacológica del ASA en el tratamiento de las eritrocitosis patológicas involucra a la vía de las COX y la síntesis de las prostaglandinas, relacionada con la síntesis del tromboxano y la agregabilidad plaquetaria, así como a la vía del NFκB inductor de la supervivencia y proliferación celular de la serie

roja ⁽²⁾. Subsecuentemente, los mecanismos moleculares relacionados son: 1) Inhibición de la síntesis de prostaglandinas, 2) Inhibición de la vía de NFkB-1 y 3) Regulación de COX2 por NFkB-1 y HIF-1 α .

1) Inhibición de la síntesis de prostaglandinas

La COX-1 es la enzima clave para la biosíntesis del tromboxano TXA₂ responsable de la agregabilidad plaquetaria. Cuando el ASA interviene inhibe de forma irreversible a COX1 (con dosis bajas) y COX2 (con dosis altas) por la unión covalente del ASA al centro activo de estas enzimas, por lo tanto la duración de los efectos del ASA dependerán de la velocidad de recambio sintético de la COX ⁽⁹⁾. Así mismo, las plaquetas no sintetizan proteínas, de ahí su gran sensibilidad a la inactivación de la COX mediada por ASA. Figura 1.

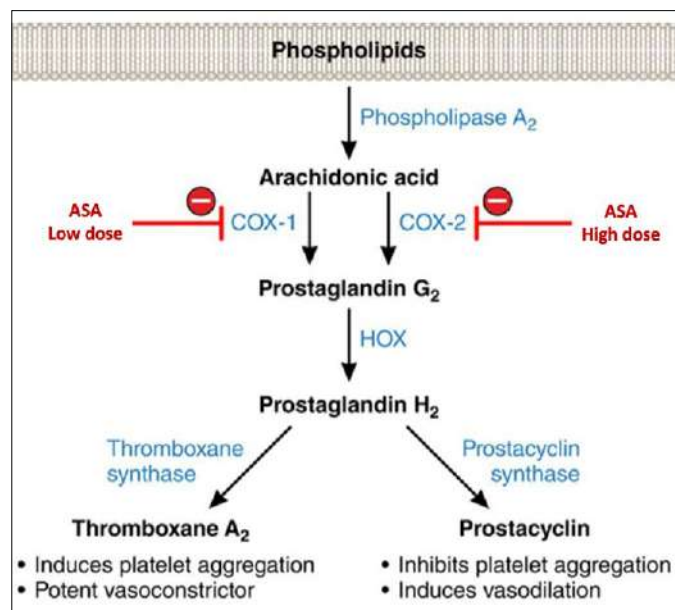


Figura 1. Acción farmacológica de ASA en la vía de COX. Mecanismo molecular de inhibición de la síntesis de tromboxanos, involucrados en la agregación plaquetaria. (Chen PS. *Journal of Biomedical Science*. 2020;27(1):1-19), (Poligone B. *Journal of Biological Chemistry*. 2001;276(42):38658-64).

Concretamente, el ASA acetila la serina 530 de la estructura de la COX-1 impidiendo que el ácido araquidónico se ligue al sitio activo de la enzima y que se formen las prostaglandinas. En

el caso de la COX-2 que desempeña también un papel en la regulación de la señal HIF ^(10, 11) como veremos más adelante, el ASA acetila el residuo serina 516 ⁽¹²⁻¹⁵⁾ bloqueando igualmente la síntesis de las prostaglandinas.

2) Inhibición de la vía de NFkB1

La proteína NFkB-1 es un factor de transcripción pleiotrópico presente en todos los tipos de células. Es además el punto final de una serie de eventos de transducción de señales que se inician por una amplia gama de estímulos relacionados con varios procesos biológicos como la inflamación, la inmunidad, la diferenciación, proliferación y apoptosis celular ⁽¹⁶⁾.

En condiciones de hipoxia, la NFkB1 es regulada positivamente y se dirige al núcleo para unirse a una secuencia del DNA denominada “hypoxia responsive element” (HRE-NFkB1) para la transcripción del HIF1 α y otros genes involucrados en la eritropoyesis ^(9, 17). En ello, el ASA inhibe tanto la acción de la proteína cinasa IKK estimulada por PHD2 como la fosforilación de las proteínas inhibitoras I κ B, bloqueando de este modo la síntesis de NFkB-1 e HIF-1 α (Figura 2). Adicionalmente, estudios recientes han revelado un alto grado de interdependencia entre la señalización HIF y NF-kB ⁽¹⁴⁾. Finalmente, en condiciones de hipoxia, HIF1 α y la subunidad p65 de NF-kB se unen directamente al promotor de la COX-2 ⁽¹⁴⁾.

3) Regulación de COX2 por NFkB1 y HIF1 α

En líneas celulares hipóxicas, el HIF-1 α y NFkB-1 se unen a sus respectivos elementos de respuesta (HRE, NRE) inmediatamente antes de la expresión de COX-2, lo que sugiere que estos factores de transcripción son reguladores de la inducción del COX-2 (Figuras 2 y 3) ^(7, 18).

El HIF-1 α reconoce la secuencia 5-RCGTG-3 del HRE en el DNA presente sobre el promotor del gen de la prostaglandina sintasa ciclooxigenasa (COX-2) ⁽¹⁸⁻²⁰⁾. Entonces, el ASA en este mecanismo de regulación podría inhibir o bloquear la inducción de HIF-1 y NFkB1 que están incrementados en la hipoxia.

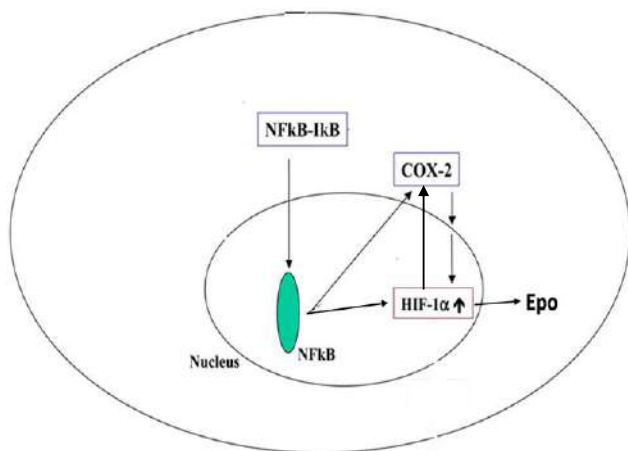


Figura 3. Mecanismo de regulación del HIF1α y NfκB1 sobre la enzima COX-2. El HIF1α y NfκB1 regulan al COX-2 y este a su vez induce al HIF-1α para la síntesis de Epo, y finalmente inducir la eritropoyesis. (Jung YJ. *The FASEB Journal*. 2003;17(14):2115-7).

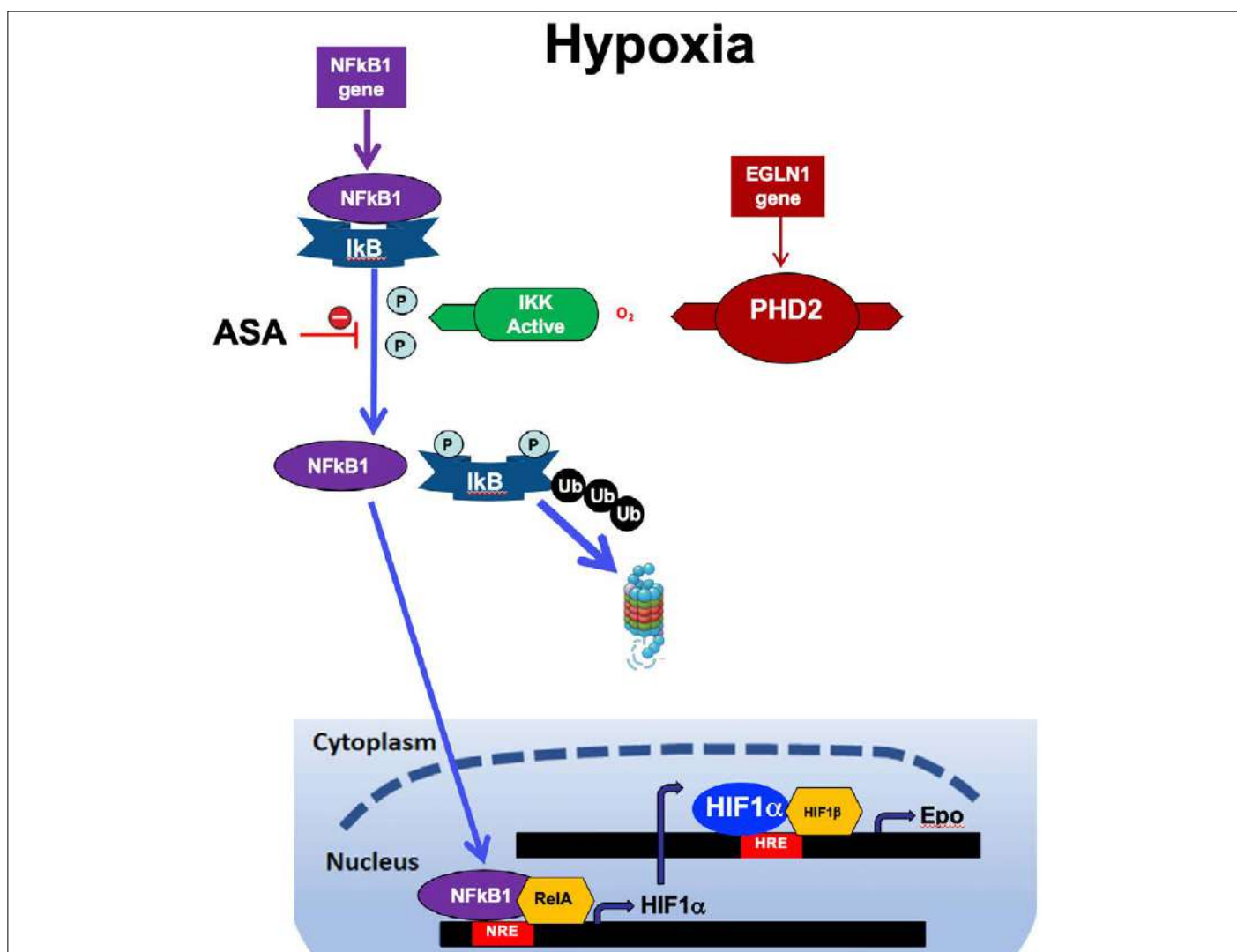


Figura 2. Acción farmacológica de ASA en la vía NfκB1. El ASA inhibe la separación de NfκB1 de su inhibidor IκB, por lo tanto, no puede actuar sobre el NRE (NfκB1 Responsive Element) bloqueándose la acción de HIF1α y la síntesis de Epo. Figueroa YG. *Experimental Hematology*. 2002;30:1419-1427, Chen PS. *Journal of Biomedical Science*. 2020; 27:1-19.

CONCLUSIONES

El ASA es la droga más utilizada en el mundo, en el tratamiento de las eritrocitosis los pacientes reciben dosis bajas (75-100 mg) diariamente como terapia profiláctica para prevenir eventos trombóticos y patologías cardiovasculares, sin presentar eventos adversos severos.

De esta forma, el ASA como uno de los medicamentos para el tratamiento de las

eritrocitosis patológicas se fundamenta en su acción pleiotrópica como antiagregante plaquetario, en su acción inhibitoria sobre la enzima COX inhibiendo posibles eventos trombóticos que suelen presentarse en estas eritrocitosis y, por último, en su acción inhibitoria de la proteína NFκB-1 seguida por la disminución del HIF-1α y Epo que coadyuva en la disminución de la eritropoyesis.

Referencias

1. Moreno-Brea M. Tolerabilidad de aspirina. *Revista de la Sociedad Española del Dolor*. 2005;12(6):357-72.
2. O'Banion MK, Sadowski HB, Winn V, Young DA. A serum-and glucocorticoid-regulated 4-kilobase mRNA encodes a cyclooxygenase-related protein. *Journal of Biological Chemistry*. 1991;266(34):23261-7.
3. Chandrasekharan N, Dai H, Roos KLT, Evanson NK, Tomsik J, Elton TS, et al. COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2002;99(21):13926-31.
4. Jouzeau J-Y, Terlain B, Abid A, Nédélec E, Netter P. Cyclooxygenase isoenzymes. *Drugs*. 1997;53(4):563-82.
5. Vane J, Bakhle Y, Botting R. Cyclooxygenases 1 and 2. *Annual review of pharmacology and toxicology*. 1998;38(1):97-120.
6. Morita I. Distinct functions of COX-1 and COX-2. *Prostaglandins & other lipid mediators*. 2002;68:165-75.
7. Kastrati I, Delgado-Rivera L, Georgieva G, Thatcher GR, Frasier J. Synthesis and Characterization of an Aspirin-fumarate Prodrug that Inhibits NFκB Activity and Breast Cancer Stem Cells. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*. 2017(119):e54798.
8. Ditsworth D, Zong W-X. NF-kappaB: key mediator of inflammation-associated cancer. *Cancer biology & therapy*. 2004;3(12):1214-6.
9. Chen P-S, Chiu W-T, Hsu P-L, Lin S-C, Peng I-C, Wang C-Y, et al. Pathophysiological implications of hypoxia in human diseases. *Journal of Biomedical Science*. 2020;27(1):1-19.
10. Poligone B, Baldwin AS. Positive and Negative Regulation of NF-κB by Cox-2 Roles Of Different Prostaglandins. *Journal of Biological Chemistry*. 2001;276(42):38658-64.
11. Jung Y-J, Isaacs JS, Lee S, Trepel J, Neckers L. IL-1β-mediated up-regulation of HIF-1α via an NFκB/COX-2 pathway identifies HIF-1 as a critical link between inflammation and oncogenesis. *The FASEB Journal*. 2003;17(14):2115-7.
12. Lecomte M, Laneuville O, Ji C, DeWitt DL, Smith WL. Acetylation of human prostaglandin endoperoxide synthase-2 (cyclooxygenase-2) by aspirin. *Journal of Biological Chemistry*. 1994;269(18):13207-15.
13. Serhan CN, Takano T, Maddox JF. Aspirin-Triggered 15-Epi-Lipoxin A 4 and Stable Analogs of Lipoxin A 4 are Potent Inhibitors of Acute Inflammation. *Lipoxigenases and their Metabolites: Springer*; 1999. p. 133-49.
14. Fitzpatrick SF, Tambuwala MM, Bruning U, Schaible B, Scholz CC, Byrne A, et al. An intact canonical NF-κB pathway is required for inflammatory gene expression in response to hypoxia. *The Journal of Immunology*. 2011;186(2):1091-6.
15. Boyd-Mutinga FA, Topaz GR, Silva CL, Berger NJ, Egbujie K, De Rodriguez SF, et al. Characterization of Predicted Binding Modes of Acetylsalicylic Acid (Aspirin) to the COX-2 Target. *The FASEB Journal*. 2020;34(S1):1-.
16. Bernal GM, Wahlstrom JS, Crawley CD, Cahill KE, Pytel P, Liang H, et al. Loss of Nfkb1 leads to early onset aging. *Aging (Albany NY)*. 2014;6(11):931.
17. Figueroa YG, Chan AK, Ibrahim R, Tang Y, Burow ME, Alam J, et al. NF-κB plays a key role in hypoxia-inducible factor-1-regulated erythropoietin gene expression. *Experimental hematology*. 2002;30(12):1419-27.
18. Lukiw WJ, Ottlecz A, Lambrou G, Grueninger M, Finley J, Thompson HW, et al. Coordinate activation of HIF-1 and NF-κB DNA binding and COX-2 and VEGF expression in retinal cells by hypoxia. *Investigative ophthalmology & visual science*. 2003;44(10):4163-70.

19. Semenza GL. HIF-1, O₂, and the 3 PHDs: how animal cells signal hypoxia to the nucleus. *Cell*. 2001;107(1):1-3.
20. Semenza GL. HIF-1: mediator of physiological and pathophysiological responses to hypoxia. *Journal of applied physiology*. 2000;88(4):1474-80.

ASCORBATO EN EL TRATAMIENTO DE LAS ERITROCITOSIS PATOLÓGICAS

Amaru Ricardo, Carrasco Mireya, Quispe Teddy, Luna Julieta, Mancilla Silvia, Patón Daniela, Valencia Juan Carlos, Amaru Ariel.

Unidad de Biología Celular, Facultad de Medicina, UMSA, La Paz, Bolivia.
Instituto Boliviano de Oncohematología 'Paolo Belli', La Paz, Bolivia.

INTRODUCCIÓN

La eritrocitosis representa el evento adverso más frecuente (44 %) durante tratamientos o terapias con testosterona (1-4) o también en casos de secreción excesiva de testosterona en pacientes con neoplasias (5, 6). Por otra parte, las eritrocitosis patológicas en la atura están relacionadas con el aumento de la concentración de testosterona (7-9) que probablemente induce el incremento de HIF-1 α y Epo seguida de un incremento en la eritropoyesis. Ahora bien, el ácido ascórbico (vitamina C) ha sido descrito como un compuesto que interviene en la actividad del HIF-1 α , de ahí su relevancia y relación con el tratamiento de las eritrocitosis (10-12).

La vitamina C se presenta en formas reducida (L-ascorbato, AA) y oxidada (ácido dehidroascórbico, DHA), es soluble en agua y un potente antioxidante (10). Se absorbe adecuadamente en el tracto gastrointestinal hasta alcanzar niveles plasmáticos de 60 mM, manteniendo esos niveles incluso con dosis superiores a 500 mg/día gracias a una eficiente excreción renal. Luego, la vitamina C ingresa a las células en la forma AA a través de transportadores específicos (SVCT1 y SVCT2), y en forma DHA mediante difusión facilitada a través del transportador de glucosa (GLUT) donde una vez dentro de la célula el DHA se reduce a AA por mecanismos enzimáticos contribuyendo a la acumulación intracelular de la forma reducida (11) (Figura 1).

Al respecto del HIF (Factor Inducible por Hipoxia), la expresión de la proteína HIF-1 β es

constitutiva, mientras que HIF-1 α está regulado por la tensión de oxígeno. En condiciones de normoxia, dos residuos de prolina (402 y 564) de HIF-1 α son hidroxilados por la enzima prolil hidroxilasa (PHD), lo que hace que el complejo ubiquitina-ligasa pVHL-E3 reclute HIF-1 α para la ubiquitinación.

La enzima PHD usa como cofactor a la L-Ascorbato (AA) junto al Fe y α -cetoglutarato (12-15). Por su parte, el factor inhibidor de HIF-1 α (FIH) es una enzima que hidroxila un residuo de asparagina (803) de HIF-1 α y, cuando está hidroxilado, HIF-1 α no puede reclutar el coactivador p300/CBP y pierde por tanto su capacidad transcripcional. Al igual que las enzimas PHD, el FIH también requiere AA, Fe2 y α -cetoglutarato para su activación. Por lo que, si alguno de estos cofactores es limitado HIF-1 α se estabiliza y activa independientemente el nivel de oxígeno (16).

Relacionando ese mecanismo en las eritrocitosis, la Vitamina C inhibe a HIF-1 α y subsiguientemente a Epo de modo que bloquea la vía de la síntesis de los factores de transcripción involucrados con la eritropoyesis. De esta forma, concierne a este capítulo profundizar en los mecanismos moleculares involucrados y su correspondencia en el tratamiento de las eritrocitosis.

ACCIÓN FARMACOLÓGICA Y MECANISMOS MOLECULARES

La vitamina C interviene en múltiples reacciones metabólicas (Figura 1). Actúa como un cofactor para varias reacciones enzimáticas

que participan tanto en la hidroxilación postraducciona como en la hidroxilación del HIF, además de ser un regulador importante en la absorción del hierro (11).

Considerando eso, se propone mecanismos de acción molecular en los que la Vitamina C en su forma de L-ascorbato (AA) interviene, permitiendo la disminución de la eritropoyesis. Estos mecanismos son los siguientes:

- 1) Inhibición de HIF-1 α en la vía metabólica de la testosterona
- 2) Inducción de la cinética enzimática de PHD2
- 3) Inhibición de la vía de señalización de NFkB1

1) Inhibición de HIF-1 α en la vía metabólica de la testosterona

La acción, in vivo, de la testosterona en el incremento de la eritropoyesis ha sido demostrada en diversos estudios (17, 18). Se conoce que la administración de testosterona en varones aumenta significativamente el nivel de EPO sérica de 13,5 a 21,3 mIU/ml; seguida de un aumento de 1,1 g/dl en la hemoglobina que representa un aumento del 7 %. Tres meses después de la interrupción de la administración de testosterona, la hemoglobina vuelve a valores iniciales.

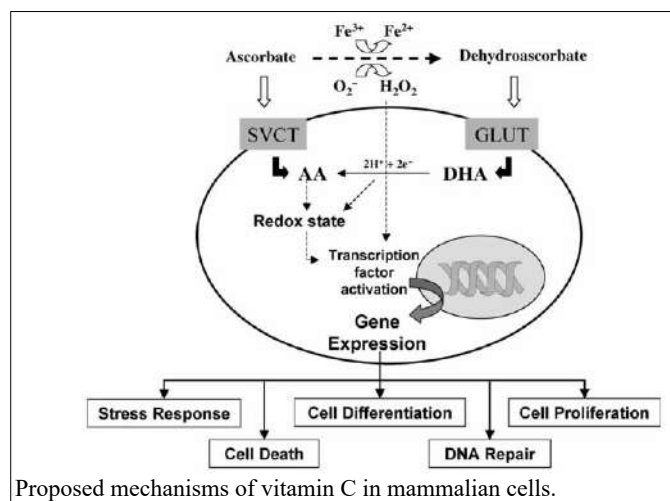


Figura 1. Metabolismo de la Vitamina C. Vía metabólica de la Vitamina C y su mecanismo de acción sobre la proliferación, diferenciación y apoptosis celular. (Duarte TL. Free radical research. 2005;39(7):671-86).

Empero, durante la administración de testosterona inhibe la síntesis de hepcidina en un 49 %, permitiendo el aumento de la absorción de hierro para incrementar la eritropoyesis (17, 18). En ello, la administración de Vitamina C permite inhibir la síntesis de la eritropoyetina a través de la inhibición del HIF-1 α y disminuye la eritropoyesis (Figuras 2, 3) (10).

2) Inducción de la cinética enzimática de PHD2

La Vitamina C, cofactor de PHD2, induce la acción de PHD2 para la hidroxilación del HIF-1 α para posterior ubiquitinación y degradación por proteosomas, de este modo disminuye la concentración de la eritropoyetina y posteriormente la eritropoyesis (19) (Figuras 4 y 5).

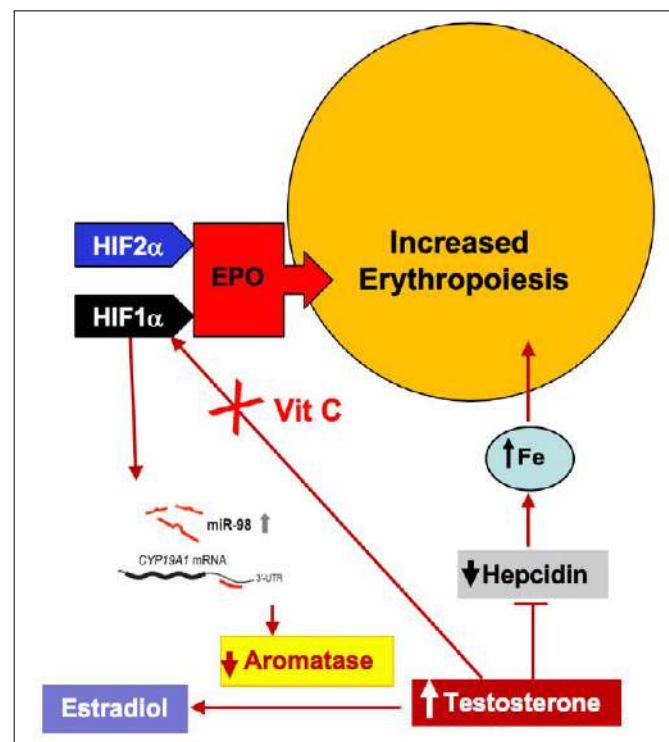


Figura 2. Mecanismo de inhibición de la vía HIF-1 α por la Vitamina C. La Vitamina C inhibe la estabilidad del HIF-1 α disminuyendo la síntesis de la eritropoyetina y la eritropoyesis. (Bachman E. Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences. 2013;69(6):725-35), (Coviello AD. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2008;93(3):914-9).

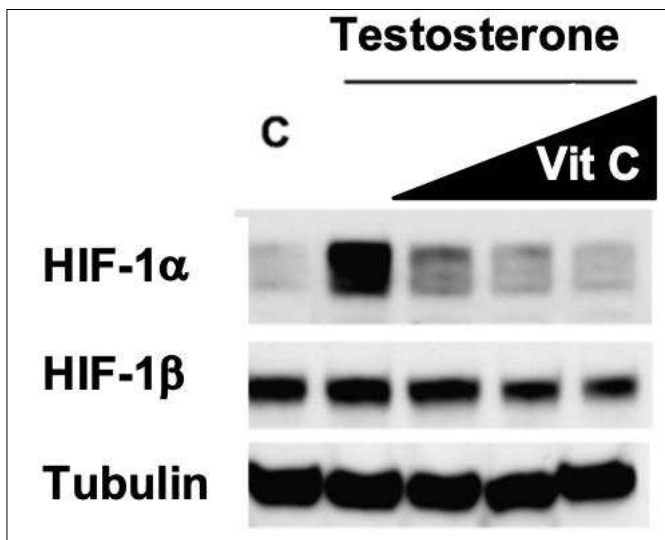


Figura 3. Western Blot de la inhibición del HIF-1 α por la Vitamina C. La Vitamina C inhibe la síntesis del HIF-1 α que está elevada en las eritrocitosis patológicas de altura y en pacientes que reciben terapia con testosterona. (Fischer AP. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2017;86:502-13).

3) Inhibición de la vía NF κ B1

La Vitamina C inhibe la vía del NF κ B1, desarrollando una acción que está mediada por la inhibición de la activación de IKK (fosforilación de IKK) ⁽²⁰⁾ (Figuras 6 y 7).

CONCLUSIONES

De esta forma, los datos sugieren que la Vitamina C inhibe la expresión de HIF-1 α inducida por testosterona ⁽¹⁶⁾. En consecuencia, el uso del ascorbato puede reducir el HIF-1 α y subsecuentemente disminuir la eritropoyetina, seguida también de la disminución de la eritropoyesis.

También se puede dilucidar que, la vitamina C inhibe la activación del IKK inhibiendo de ese modo la vía del NF κ B1, seguida de la disminución de HIF-1 α , Epo y ulteriormente, la disminución de la eritropoyesis ⁽²⁰⁾.

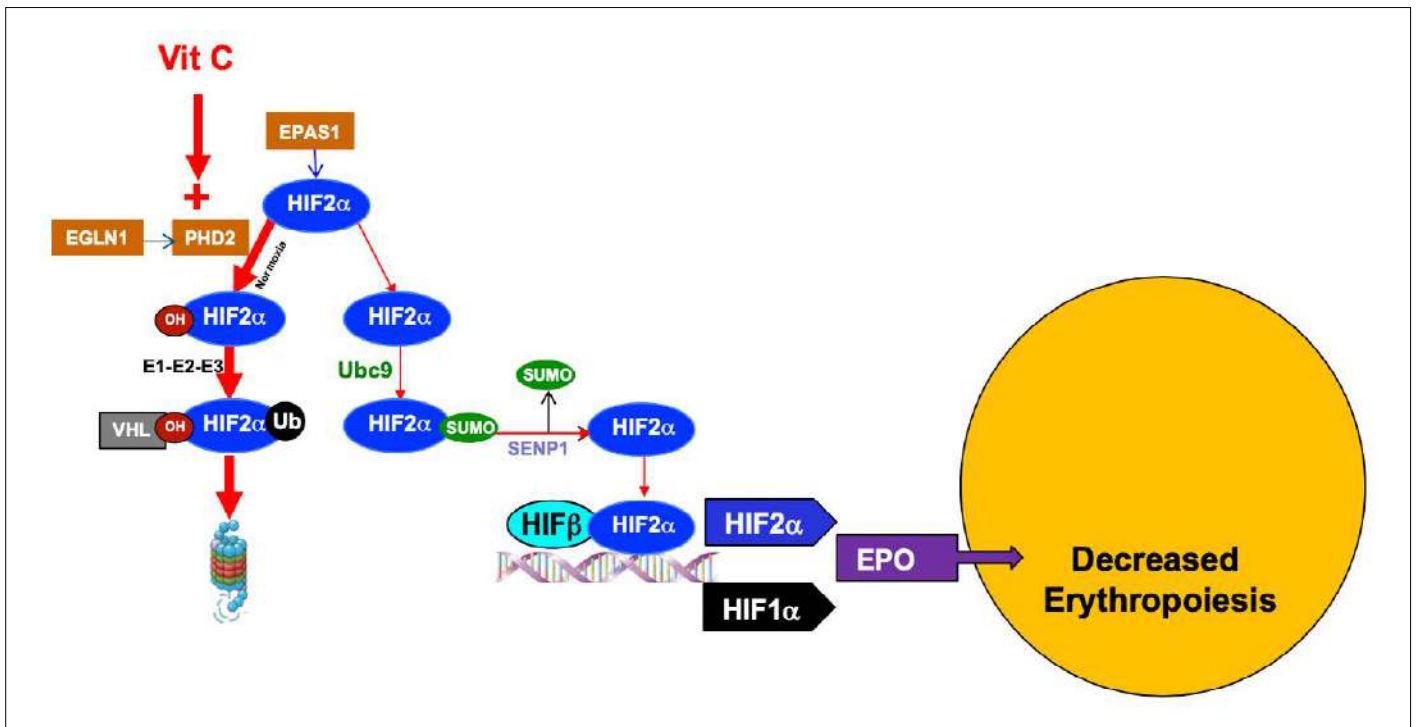


Figura 4. Mecanismo molecular de la Vitamina C en la inducción de la enzima PHD2. La vitamina C induce la actividad de la enzima PHD2 para aumentar la hidroxilación de HIF-2 α y posterior proteólisis en el proteosoma, seguida de una disminución de Epo y eritropoyesis. (Haase VH. *Blood reviews*. 2013;27(1):41-53).

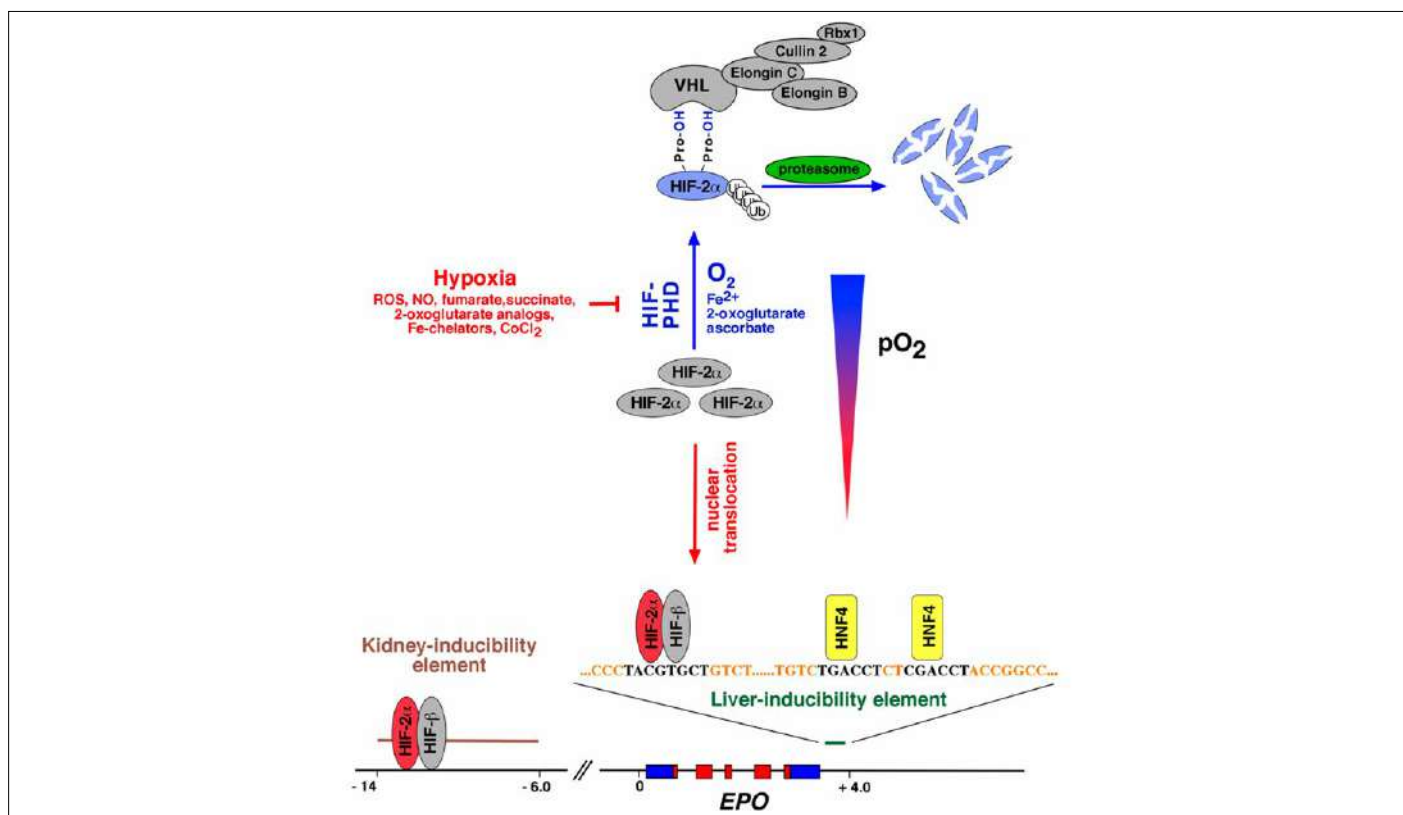


Figura 5. Hidroxilación del HIF-2α por el cofactor Vitamina C. El L-ascorbato (AA) como cofactor de la hidroxilación de HIF-2α aumenta la hidroxilación seguida de la degradación en los proteosomas. (Haase VH. Blood reviews. 2013;27(1):41-53)

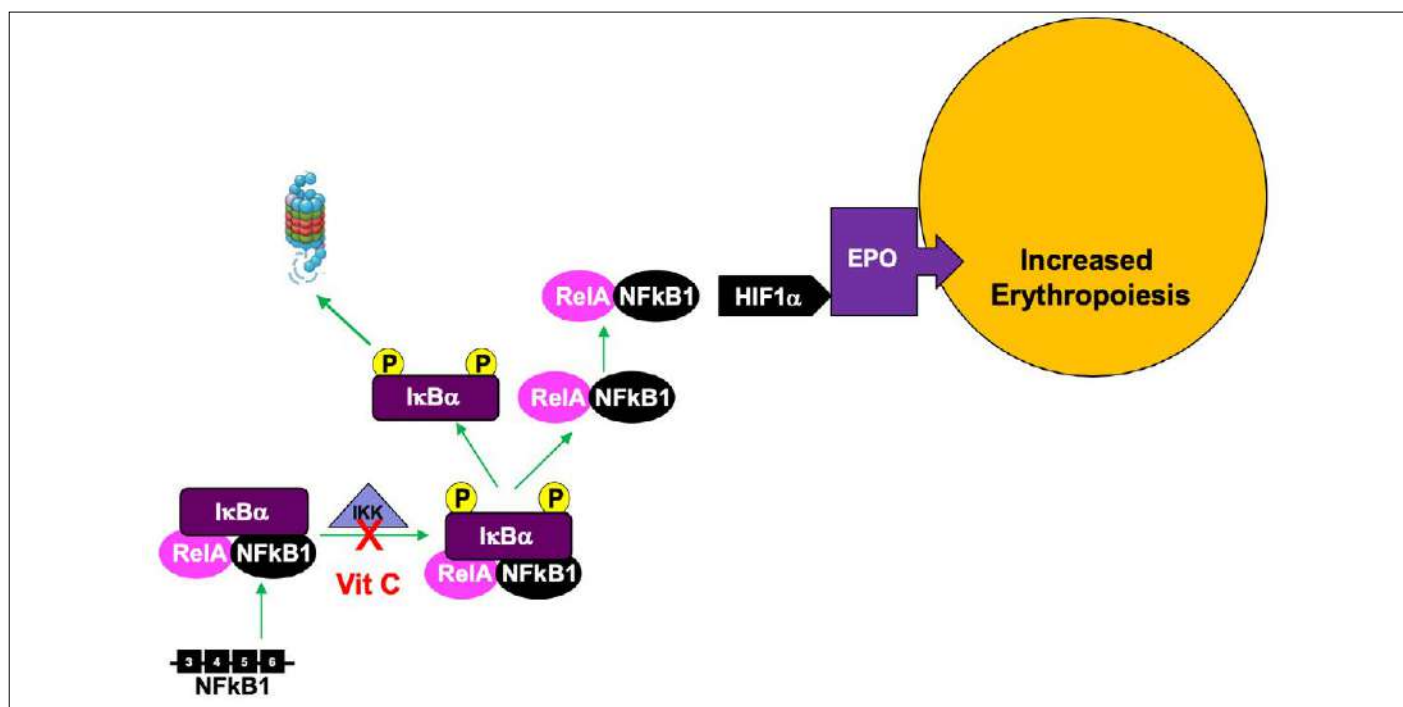


Figura 6. Inhibición de la vía del NFKB1 por la Vitamina C. La Vitamina C inhibe la fosforilación del IKK y de este modo el NFκB1 no puede actuar como factor de transcripción para inducir la eritropoyesis. (Bowie AG. The Journal of Immunology. 2000;165(12):7180-8).

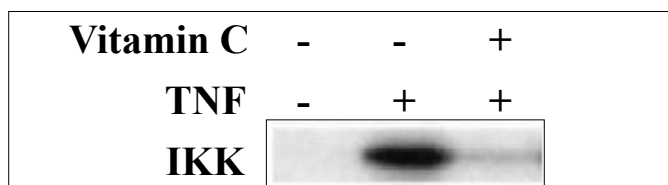


Figura 7. Inhibición de la IKK por la Vitamina C. Western blot, la vitamina inhibe al IKK estimulada por TNF. (Bowie AG. *The Journal of Immunology*. 2000;165(12):7180-8).

Referencias

1. Van Buren N, Hove A, French T, Gorlin J. Therapeutic Phlebotomy for Testosterone-Induced Polycythemia. *American journal of clinical pathology*. 2020.
2. Cobo G, Gallar P, Gioia CD, García Lacalle C, Camacho R, Rodríguez I, et al. Hipogonadismo asociado a atrofia muscular, inactividad física e hiposensibilidad a FEE en varones sometidos a hemodiálisis. *Nefrología (Madrid)*. 2017;37(1):54-60.
3. Iyengar A, Sheppard D. A case of erythrocytosis in a patient treated with an aromatase inhibitor for breast cancer. *Case reports in hematology*. 2013;2013.
4. Jones Jr SD, Dukovac T, Sangkum P, Yafi FA, Hellstrom WJ. Erythrocytosis and polycythemia secondary to testosterone replacement therapy in the aging male. *Sexual medicine reviews*. 2015;3(2):101-12.
5. Deruyver Y, Gabriel C, Debussche S, Waterloos M, Huybrechts S, Dekuyper P, et al. An excessive testosterone producing testicular Leydig cell tumor as a rare cause of secondary acquired erythrocytosis. *Urology*. 2020.
6. Kitayama H, Kondo T, Sugiyama J, Hirayama M, Oyamada Y, Tsuji Y. Paraneoplastic erythrocytosis of colon cancer, with serum erythropoietin within the normal reference range. *The American journal of case reports*. 2016;17:417.
7. Gonzales GF. Hemoglobina y testosterona: importancia en la aclimatación y adaptación a la altura. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 2011;28(1):92-100.
8. Shahani S, Braga-Basaria M, Maggio M, Basaria S. Androgens and erythropoiesis: past and present. *Journal of endocrinological investigation*. 2009;32(8):704-16.
9. Gonzales G, Tapia V, Gasco M, Gonzales-Castañeda C. Serum testosterone levels and score of chronic mountain sickness in Peruvian men natives at 4340 m. *Andrologia*. 2011;43(3):189-95.
10. Fischer AP, Miles SL. Ascorbic acid, but not dehydroascorbic acid increases intracellular vitamin C content to decrease Hypoxia Inducible Factor-1 alpha activity and reduce malignant potential in human melanoma. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2017;86:502-13.
11. Duarte TL, Lunec J. When is an antioxidant not an antioxidant? A review of novel actions and reactions of vitamin C. *Free radical research*. 2005;39(7):671-86.
12. Pagé EL, Chan DA, Giaccia AJ, Levine M, Richard DE. Hypoxia-inducible factor-1 α stabilization in nonhypoxic conditions: role of oxidation and intracellular ascorbate depletion. *Molecular biology of the cell*. 2008;19(1):86-94.
13. Traber MG, Stevens JF. Vitamins C and E: beneficial effects from a mechanistic perspective. *Free Radical Biology and Medicine*. 2011;51(5):1000-13.
14. Tiana M, Acosta-Iborra B, Hernandez-Sierra R, Galiana-Ribote C, Fernandez-Moreno MA, Jimenez B, et al. Metabolic labelling of RNA uncovers the contribution of transcription and decay rates on hypoxia-induced changes in RNA levels. *RNA*. 2020;rna. 072611.119.
15. Osipyants AI, Poloznikov AA, Smirnova NA, Hushpulian DM, Khristichenko AY, Chubar TA, et al. L-ascorbic acid: A true substrate for HIF prolyl hydroxylase? *Biochimie*. 2018;147:46-54.
16. Li S-H, Ryu J-H, Park S-E, Cho Y-S, Park J-W, Lee W-J, et al. Vitamin C supplementation prevents testosterone-induced hyperplasia of rat prostate by down-regulating HIF-1 α . *The Journal of nutritional biochemistry*. 2010;21(9):801-8.
17. Bachman E, Travison TG, Basaria S, Davda MN, Guo W, Li M, et al. Testosterone induces erythrocytosis via increased erythropoietin and suppressed hepcidin: evidence for a new erythropoietin/hemoglobin set point. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*. 2013;69(6):725-35.

Finalmente, como la etiopatogenia de las eritrocitosis patológicas en la altura involucra al HIF-a y NFKB1, probablemente la Vitamina C podría inhibir la eritropoyesis, y constituirse en un medicamento coadyuvante al tratamiento de las eritrocitosis patológicas en la altura.

18. Coviello AD, Kaplan B, Lakshman KM, Chen T, Singh AB, Bhasin S. Effects of graded doses of testosterone on erythropoiesis in healthy young and older men. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2008;93(3):914-9.
19. Haase VH. Regulation of erythropoiesis by hypoxia-inducible factors. *Blood reviews*. 2013;27(1):41-53.
20. Bowie AG, O'Neill LA. Vitamin C inhibits NF- κ B activation by TNF via the activation of p38 mitogen-activated protein kinase. *The Journal of Immunology*. 2000;165(12):7180-8.

HIDROXIUREA EN EL TRATAMIENTO DE LAS ERITROCITOSIS PATOLÓGICAS

Amaru Ricardo, Carrasco Mireya, Quispe Teddy, Luna Julieta, Mancilla Silvia, Patón Daniela, Valencia Juan Carlos, Amaru Ariel.

Unidad de Biología Celular, Facultad de Medicina, UMSA, La Paz, Bolivia.
Instituto Boliviano de Oncohematología 'Paolo Belli', La Paz, Bolivia.

INTRODUCCIÓN

La hidroxurea (HU) fue sintetizada por primera vez en Alemania durante la década de 1860 por Dressler y Stein; posteriormente, Rosenthal demostró la capacidad del fármaco para inducir leucopenia y anemia en animales ⁽¹⁾. La HU es hidrosoluble y se absorbe adecuadamente por vía oral, la concentración sérica alcanza su punto máximo en 2 horas y se elimina casi completamente por vía renal en 24 horas ⁽²⁾. En las células sanguíneas humanas, los leucocitos suelen concentrar mayor grado de hidroxurea que los eritrocitos ⁽³⁾; por ello, este medicamento ha sido utilizado en el tratamiento de la Leucemia Mieloide Crónica y la Policitemia Vera durante mucho tiempo ⁽⁴⁻⁸⁾. Conlleva un efecto mielosupresor donde la serie eritroide sufre una disminución en la eritropoyesis, que se ve reflejada en el descenso de la hemoglobina ⁽⁹⁻¹¹⁾. Empero, ese último dato puede extrapolarse benéficamente en el tratamiento de las eritrocitosis en la altura.

La hidroxurea por lo general es un fármaco bien tolerado, una ingesta de 1,5 g VO/día no produce efectos secundarios significativos como para suspender la medicación, sin embargo, los eventos hematológicos adversos más comunes comprenden la anemia que puede presentarse en un 12 %, la leucopenia hasta un 7 % y la trombocitopenia en 3 %, así mismo para una reversión de la mielosupresión la suspensión del medicamento es suficiente ⁽¹²⁻¹⁴⁾.

La hidroxurea está involucrada en la replicación celular, probablemente en las últimas

etapas de la síntesis del DNA ⁽³⁾, y la inhibición de la enzima ribonucleótido reductasa es responsable del bloqueo de la fase S del ciclo celular ^(5, 15-20). De esta forma, resulta relevante elucidar los mecanismos moleculares implicados.

ACCIÓN FARMACOLÓGICA Y MECANISMOS MOLECULARES

En ensayos experimentales, la hidroxurea produce de forma transitoria eritroblastopenia en la médula ósea y reticulocitopenia en la sangre periférica ⁽²¹⁾. Esta acción citotóxica contra las células de la línea eritroide constituyen a su vez el fundamento del uso de HU para el tratamiento de las eritrocitosis patológicas ^(22, 23); involucrando mecanismos que son detallados a continuación:

- 1) Inducción de la apoptosis celular
- 2) Inducción de senescencia celular
- 3) Inhibición de la proliferación celular
- 4) Inhibición del ciclo celular

1) Inducción de la apoptosis celular

La apoptosis inducida por HU puede estar correlacionada con la eliminación del oncogén c-myc amplificado extracromosómicamente, los resultados sugieren que la eliminación del DNA extracromosómico podría ser otra vía para la inducción de apoptosis ⁽²⁴⁾. Así también, la inducción de la apoptosis también podría estar mediada por la inducción de p53 y su objetivo transcripcional p21 ⁽²⁴⁻²⁶⁾.

La hidroxurea induce la apoptosis de las células K562 mediante la inhibición de la proteína Bcl2 antiapoptótica, así como la regulación por aumento

de Bax apoptótica y la proteína PARP degradada de una manera independiente de p53 ⁽²⁷⁻²⁹⁾.

2) Inducción de senescencia celular

El mecanismo de inducción para la senescencia de las células K562 por hidroxiurea probablemente se deba a su actividad inhibidora de la ribonucleótido reductasa que causa una reducción de los desoxinucleótidos requeridos para la síntesis de DNA, lo que produce roturas del DNA seguido de una disminución de la transcripción de genes involucrados en

la proliferación celular, y puede dar lugar a senescencia celular ⁽¹²⁾ (Figura 1).

3) Inhibición de la proliferación celular

La HU inhibe la proliferación celular, a dosis dependiente, en la línea celular de eritroleucemia humana K562 ⁽²⁷⁾ (Figura 2).

4) Inhibición del ciclo celular

La HU produce un bloqueo reversible de la eritropoyesis, manifestándose una reducción del 10 % de la población de CFU-E durante el cultivo

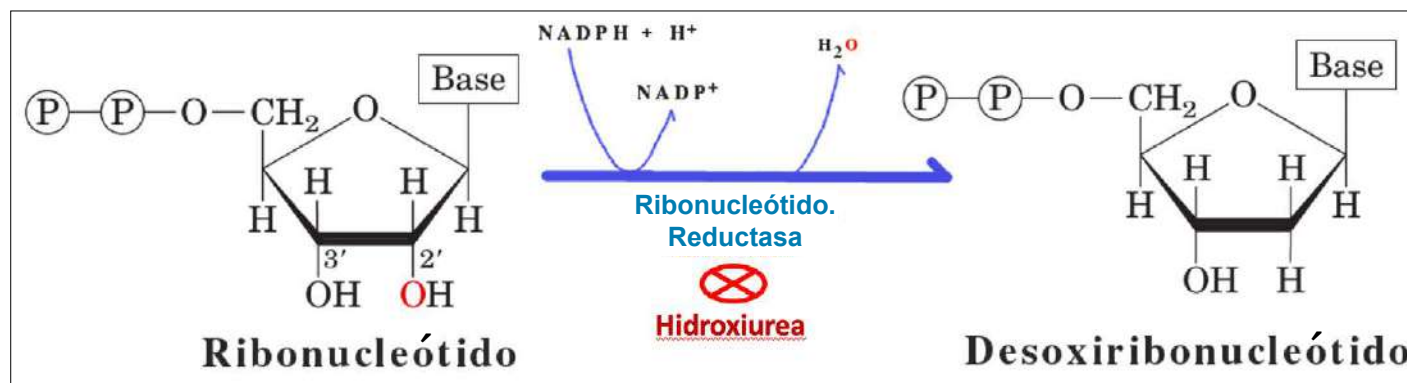


Figura 1. Inhibición de la Ribonucleótido Reductasa por HU. Mecanismo de acción de HU inhibiendo la enzima Ribonucleótido Reductasa. (Rodwell. Harper Bioquímica Ilustrada. Editorial Mc Graw Hill, 2015).

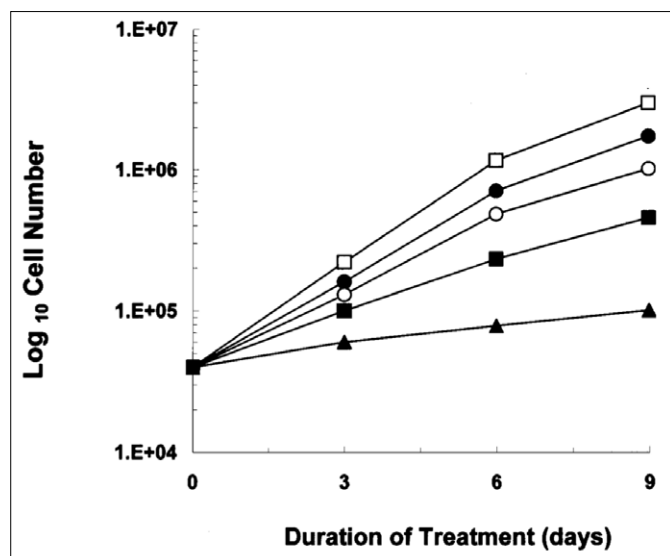


Figura 2. Inhibición de la proliferación de células K562 por HU. Células K562 con suplemento de Hidroxiurea en uM (cuadrados blancos 0, círculos negros 50, círculos blancos 200, cuadrados negros 400, triángulos negros 600). (Park JI. Journal of cancer research and clinical oncology.2000;126(8):455-60).

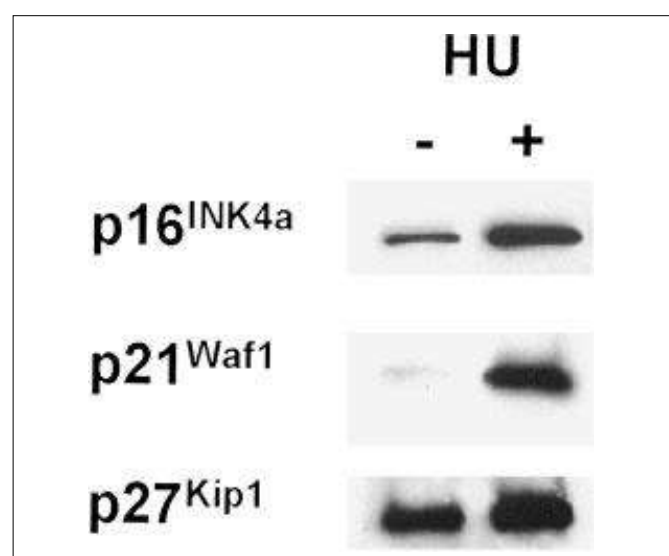


Figura 3. Inducción de inhibidores de cdk por HU. Las células K562 tratadas con hidroxiurea, en estudio de western blot, presentan aumento de inhibidores de cdk (p16INK4a, p21Waf1 o p27Kip1) (Park JI. Journal of cancer research and clinical oncology.2000;126(8):455-60).

celular de la línea eritroide ⁽³⁰⁻³³⁾. Este bloqueo está relacionado con la inducción de los inhibidores de ciclinas dependientes de la kinasa (cdk) como p16INK4a, p27Kip1 y en especial de la p21Waf1. La acumulación de esos inhibidores de cdk podría bloquear el ciclo celular en la fase G1 ⁽²⁷⁾ (Figura 3).

Conclusión

La hidroxiurea es un agente citotóxico, antimetabólico y antineoplásico utilizado durante varias décadas para tratar una variedad de trastornos hematológicos, especialmente la policitemia vera y la leucemia mieloide crónica. El mecanismo

molecular de la hidroxiurea se fundamenta en su acción como un potencial inhibidor de la ribonucleótido reductasa, una enzima intracelular ubicua que convierte los ribonucleótidos en desoxirribonucleótidos que son necesarios para la síntesis y reparación del DNA ⁽³⁴⁾. Considerando la actividad proliferativa intensa que caracteriza a la línea eritroide, esta es bloqueada con preferencia por la HU. Por todo esto, la hidroxiurea es útil en el tratamiento de las eritrocitosis y en especial en pacientes adultos mayores con eritrocitosis secundaria contraindicados para flebotomía ⁽³⁵⁾.

Referencias

1. Boyd AS, Neldner KH. Hydroxyurea therapy. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 1991;25(3):518-24.
2. ROSTEN M. Hydroxyurea: a new antimetabolite in the treatment of psoriasis. *British Journal of Dermatology*. 1971;85(2):177-81.
3. McDonald CJ. The uses of systemic chemotherapeutic agents in psoriasis. *Pharmacology & therapeutics*. 1981;14(1):1-24.
4. Barbui T, Vannucchi AM, Finazzi G, Finazzi MC, Masciulli A, Carobbio A, et al. A reappraisal of the benefit-risk profile of hydroxyurea in polycythemia vera: A propensity-matched study. *American journal of hematology*. 2017;92(11):1131-6.
5. Barbui T, Finazzi G, editors. *Therapy for polycythemia vera and essential thrombocythemia is driven by the cardiovascular risk*. Seminars in thrombosis and hemostasis; 2007: Copyright© 2007 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New York.
6. Bartalucci N, Guglielmelli P, Vannucchi AM. Polycythemia vera: the current status of preclinical models and therapeutic targets. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*. 2020(just-accepted).
7. Büyükaşık Y, Ali R, Turgut M, Saydam G, Yavuz S, Ünal A, et al. Patterns of Hydroxyurea Prescription and Use in Routine Clinical Management of Polycythaemia Vera: a Multicentre Chart Review Study Running Title: Hydroxyurea in Routine PV Care. *Turkish journal of haematology: official journal of Turkish Society of Haematology*. 2020.
8. Donehower RC, editor *An overview of the clinical experience with hydroxyurea*. Seminars in oncology; 1992.
9. Woofter J, Anderson P. Megaloblastic anemia in the management of severe psoriasis. *The West Virginia medical journal*. 1975;71(12):352.
10. Stein Km, Shelley Wb, Weinberg Ra. Hydroxyurea in the treatment of pustular psoriasis. *British Journal of Dermatology*. 1971;85(1):81-5.
11. Wahba A, Cohen H, Bar-Eli M, Callily R. Neutrophil chemotaxis in psoriasis. *Acta dermato-venereologica*. 1979;59(5):441-5.
12. Layton A, Sheehan-Dare R, Goodfield M, Cotterill J. Hydroxyurea in the management of therapy resistant psoriasis. *British Journal of Dermatology*. 1989;121(5):647-53.
13. Kennedy B, Smith LR, Goltz RW. Skin changes secondary to hydroxyurea therapy. *Archives of dermatology*. 1975;111(2):183-7.
14. De Bergsagel D, Frenkel E, Alfrey C, Thurman W. Megaloblastic erythropoiesis induced by hydroxyurea (NSC-32065). *Cancer chemotherapy reports Part 1*. 1964;40:15-7.
15. Amaru R, Amaru A, Míguez H, Torres G, Mamani J, Aguilar M, et al. Successful Treatment of HU-Refractory Polycythemia Vera with Atorvastatin and Low Dose Hydroxyurea. Results from a Pilot Study in Bolivia. *Am Soc Hematology*; 2015.
16. González L, Sánchez MA, Insausti CL. Tratamiento con hidroxiurea en niños con drepanocitosis. Resultados preliminares. *Revista de Hematología Volumen*. 2012;13(4):166.
17. Demuyneck T, Verhoef G, Delforge M, Vandenberghe P, Devos T. Polycythemia vera and hydroxyurea resistance/intolerance: a monocentric retrospective analysis. *Annals of hematology*. 2019;98(6):1421-6.

18. Streiff MB, Smith B, Spivak JL. The diagnosis and management of polycythemia vera in the era since the Polycythemia Vera Study Group: a survey of American Society of Hematology members' practice patterns. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. 2002;99(4):1144-9.
19. Charache S, Terrin ML, Moore RD, Dover GJ, Barton FB, Eckert SV, et al. Effect of hydroxyurea on the frequency of painful crises in sickle cell anemia. *New England Journal of Medicine*. 1995;332(20):1317-22.
20. Lassmann G, Thelander L, Gräslund A. EPR stopped-flow studies of the reaction of the tyrosyl radical of protein R2 from ribonucleotide reductase with hydroxyurea. *Biochemical and biophysical research communications*. 1992;188(2):879-87.
21. Morse BS, Rencricca NJ, Stohlman Jr F. The effect of hydroxyurea on differentiated marrow erythroid precursors. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 1969;130(3):986-9.
22. Fishbein WN, Carbone PP. Hydroxyurea: mechanism of action. *Science*. 1963;142(3595):1069-70.
23. Salazar MM. Técnicas para la detección de apoptosis y senescencia celular in vitro y su importancia en biotecnología de la salud. *Revista colombiana de biotecnología*. 2009;11(2):152-66.
24. Petit T, Davidson K, Izbicka E, Von Hoff D. Elimination of extrachromosomal c-myc genes by hydroxyurea induces apoptosis. *Apoptosis*. 1999;4(3):163-7.
25. Johnson CA, Forster TH, Winterford CM, Allan DJ. Hydroxyurea induces apoptosis and regular DNA fragmentation in a Burkitt's lymphoma cell line. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*. 1992;1136(1):1-4.
26. AKÇA H, ÖZEŞ ON. Hydroxyurea induces p53 accumulation and apoptosis in human cervical carcinoma cells. *Turkish Journal of Biology*. 2002;26(3):145-50.
27. Park J-I, Jeong J-S, Han J-Y, Kim D-I, Gao Y-H, Park S-C, et al. Hydroxyurea induces a senescence-like change of K562 human erythroleukemia cell. *Journal of cancer research and clinical oncology*. 2000;126(8):455-60.
28. Wu Y, Zhang Y, Shi J, Liu S, Liu Y, Zheng D. Molecular mechanism of hydroxyurea enhances K562 cell apoptosis induced by tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand. *Zhongguo yi xue ke xue Yuan xue bao Acta Academiae Medicinae Sinicae*. 2012;34(2):146-52.
29. Lee YJ, Park DS, Cho JH. The Expression of Hydroxyurea Induced Apoptosis Associated Proteins on Chronic Myelogenous Leukemic K562 Cells. *Korean Journal of Clinical Pathology*. 2001;21(2):98-103.
30. Nečas E, Hauser F. Analysis of the effect of hydroxyurea on stem cell (CFU-s) kinetics. *Cell Proliferation*. 1982;15(1):39-47.
31. Vassort F, Winterholer M, Frindel E, Tubiana M. Kinetic parameters of bone marrow stem cells using in vivo suicide by tritiated thymidine or by hydroxyurea. *Blood*. 1973;41(6):789-96.
32. Nečas E, Neuwirt J. Control of haemopoietic stem cell proliferation by cells in DNA synthesis. *British journal of haematology*. 1976;33(3):395-400.
33. Bhuyan B, Fraser T, Gray L, Kuentzel S, Neil G. Cell-kill kinetics of several S-phase-specific drugs. *Cancer research*. 1973;33(4):888-94.
34. McGann PT, Ware RE. Hydroxyurea for sickle cell anemia: what have we learned and what questions still remain? *Current opinion in hematology*. 2011;18(3):158.
35. Amaru A, Carrasco M, Paton D, Vera O, Amaru R. Hidroxiurea en el tratamiento de eritrocitosis secundaria en adultos mayores contraindicados para flebotomía. *Revista de Hematología*. 2020;21(2):77-85.

VALORES HEMATOLÓGICOS DE MUJERES GESTANTES EN LA ALTURA (3650 msnm)

Araoz Ruben, Alvarez Guillermo, Villarroel Ligia, Quispe Teddy, Patón Daniela, Amaru Ricardo.

Hospital de la Mujer, La Paz, Bolivia.

Unidad de Biología Celular, Facultad de Medicina, UMSA, La Paz, Bolivia.

INTRODUCCIÓN

El embarazo es un proceso fisiológico que conlleva modificaciones en órganos y sistemas, entre ellos cambios importantes en la hematopoyesis ⁽¹⁾. Durante este proceso se presenta un aumento del volumen plasmático sin modificación de la masa eritrocitaria que ocasiona una hemodilución seguida de un leve descenso del hematocrito ⁽²⁾, disminución de la viscosidad sanguínea y mayor disponibilidad de óxido nítrico para favorecer el flujo útero-placentario ^(3,4).

Los habitantes de grandes alturas, bajo condiciones de hipoxia crónica, sufren cambios fisiológicos y bioquímicos que les permiten adaptarse al ambiente hipobárico. La presión barométrica disminuida en grandes alturas, los procesos evolutivos y los tiempos de exposición distintos en los que vivieron las poblaciones residentes a grandes alturas ocasionaron modificaciones en los valores hematológicos dando como resultado distintos niveles de hemoglobina, hematocrito y probablemente reticulocitos; además de ello, estas modificaciones dependen de factores como la edad, sexo, lugar de residencia y tiempo de gestación ^(6,8).

Por un lado, los valores de hemoglobina para las mujeres no gestantes residentes a nivel del mar son de 12 a 15 g/dl; mientras que, los valores normales de hemoglobina para mujeres no gestantes residentes de la ciudad de La Paz-Bolivia a 3650 m s. n. m. son de 14 a 17 g/dl. Otros estudios realizados en Perú a 4300 m s. n. m. y en Himalaya a 3658 m s. n. m. reportan 14,0 g/dl y 14,9 g/dl respectivamente ^(5,9,10). A su vez, los

valores de reticulocitos en mujeres no gestantes a nivel del mar son de 0,5 a 2,5 %.

Por otro lado, los valores de hemoglobina establecidos para mujeres gestantes residentes a nivel del mar son de 10 a 11 g/dl, notándose una diferencia de 1,8 g/dl entre mujeres gestantes y no gestantes ⁽⁶⁾. Esta diferencia en mujeres gestantes residentes a grandes alturas es variada, así por ejemplo, Estados Unidos (3100 m s. n. m.) presenta una diferencia de 1,3 g/dl, Perú (4300 m s. n. m.) 0,9 g/dl; mientras que el Tibet (3658 m s. n. m.) reporta una diferencia de 2,3 g/dl ^(5,7).

Considerando esta información, se infiere que los datos hematológicos para las mujeres gestantes residentes entre 3650 y 4000 m s. n. m. (ciudades de La Paz y El Alto) precisan ser dilucidados con más detalle ^(5,19). Por ello, el presente estudio pretende determinar los datos de hemoglobina, hematocrito y reticulocitos de mujeres gestantes a término residentes a grandes alturas.

PROCEDIMIENTOS

Material y métodos

El estudio se realizó en el Hospital de la Mujer de la ciudad de La Paz- Bolivia, situada a 3600 m s. n. m. Se obtuvo muestras de sangre venosa periférica de 300 mujeres gestantes comprendidas entre 19 y 31 años de edad, con controles prenatales regulares, trabajo de parto normal, parto y alumbramiento normales; además, se obtuvo 190 muestras de sangre venosa periférica de mujeres no gestantes comprendidas entre 22 y 34 años de edad.

Las muestras de sangre fueron recolectadas en tubos vacutainer con EDTA y evaluadas dentro de los 30 minutos, en el caso de las mujeres gestantes las muestras fueron obtenidas durante el trabajo de parto.

Estudios laboratoriales de hemoglobina, hematocrito y reticulocito

La concentración de la hemoglobina y el porcentaje del hematocrito fueron realizados por contador automático Micros 60 (Horiba ABX diagnostics, Francia) y corroborados por técnicas manuales. La concentración de hemoglobina fue cuantificada por método colorimétrico (Kit Wiener Lab, Argentina) siguiendo las recomendaciones del fabricante y el porcentaje del hematocrito por método de centrifugación (micro hematocrito Hawksley, England). Finalmente, el porcentaje de reticulocitos se realizó en placa con Azul Brillante de Cresil.

Criterios de inclusión

Los criterios de inclusión considerados fueron mujeres gestantes residentes de las ciudades de La Paz y El Alto (3600 a 4000 m s. n. m.), embarazo a término con controles prenatales regulares, trabajo de parto normal, parto y alumbramiento normales, y ausencia de patología del binomio madre - niño.

Criterios de exclusión

Estos contemplaron parto pre-término o post-término, complicaciones durante trabajo de parto, parto conducido o inducido y mujeres gestantes no residentes de altura.

CARACTERÍSTICAS Y VALORES HEMATOLÓGICOS

Los resultados obtenidos en mujeres gestantes con un promedio de edad de 25 años y desvío estándar de 6,3 años evidenciaron una concentración de hemoglobina de $13,6 \pm 2,3$ g/dl con IC 13,4-13,9. La concentración media de hematocrito fue $40,9 \pm 6,4$ % e IC de 40,2- 41,7. El porcentaje de reticulocitos fue de $1,9 \pm 0,7$ % y un IC de 1,8 - 1,9 (Cuadro 1).

Los resultados de las mujeres no gestantes con promedio de edad de 27 años y desvío estándar de 8,4 evidenciaron una concentración de hemoglobina de $15,9 \pm 1,08$ g/dl e IC de 14,8-16,2; una concentración media de hematocrito $49,2 \pm 3,22$ % e IC de 48,2- 50,2. El porcentaje de reticulocitos fue de $1,3 \pm 0,6$ % y un IC de 1,1 - 1,6. (Cuadro 2)

Se observó que la concentración de hemoglobina en mujeres gestantes ($13,6 \pm 2,3$ g/dl) fue menor,

Cuadro 1. Características hematológicas de mujeres gestantes a 3600 m s. n. m.

	Promedio	DEM ±	IC 95%
Hto %	40,9	6,4	40,2-41,7
Hb g/dL	13,6	2,3	13,4-13,9
Ret %	1,9	0,7	1,8-1,9

Datos expresados en media aritmética y desviación estándar, además del intervalo de confianza de 95% producto de valor $p < 0,05$ mediante la prueba T-student.

Cuadro 2. Características hematológicas de mujeres no gestantes a 3600 m s. n. m.

	Promedio	DEM ±	IC 95%
Hto %	49,2	3,22	48,2-50,2
Hbg/dL	15,9	1,08	14,8-16,2
Ret %	1,3	0,6	1,1-1,6

Datos expresados en media aritmética y desviación estándar, además del intervalo de confianza de 95% producto de valor $p < 0,05$ mediante la prueba T-student.

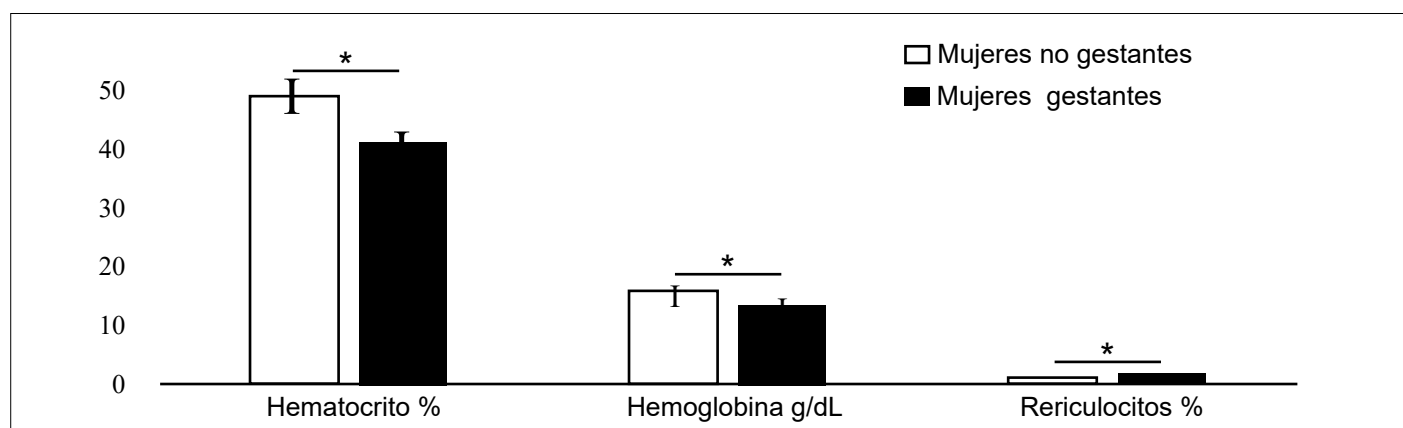


Figura 1. Comparación de variables entre mujeres no gestantes y mujeres gestantes a 3650 m s. n. m.
 Las barras representan el promedio de cada variable + DEM. Asterisco representa los valores p (* $p < 0.01$ y *** $p < 0.001$).

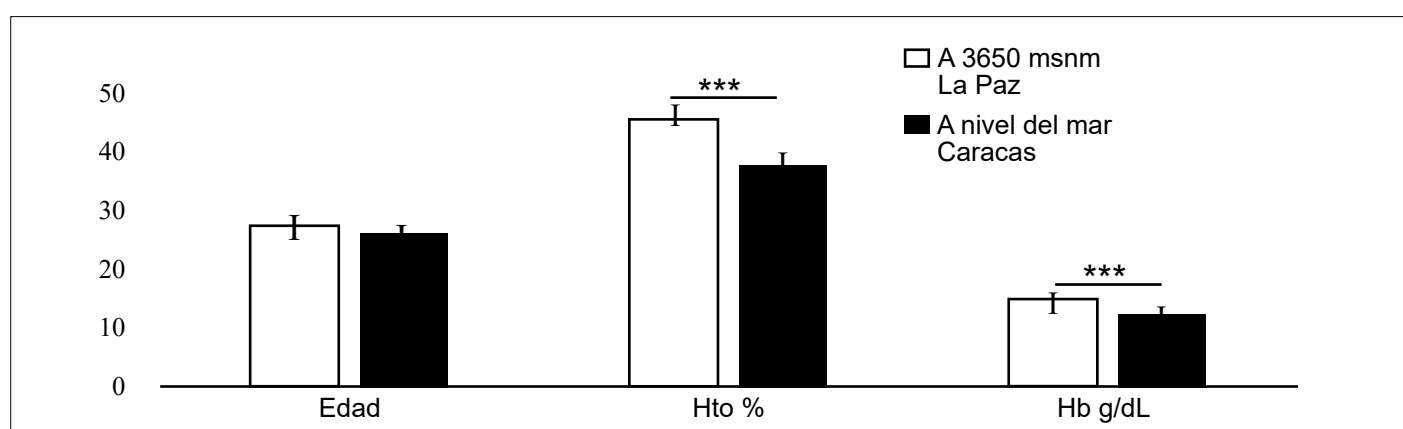


Figura 2. Comparación entre mujeres gestantes a 3650 msnm y a nivel del mar

estadísticamente significativo, que las mujeres no gestantes ($15,9 \pm 1,08$ g/dl). Las mujeres gestantes presentaron menor porcentaje de hematocrito ($40,9 \pm 6,4$ %) cuando fueron comparadas con mujeres no gestantes ($49,2 \pm 3,22$ %). Asimismo, el porcentaje de reticulocitos se encontró significativamente incrementado en mujeres gestantes ($1,9 \pm 0,7$ %) comparadas con el porcentaje de reticulocitos de mujeres no gestantes ($1,3 \pm 0,6$ %) (Figura 1).

Se estableció que la diferencia de hemoglobina entre mujeres gestantes y mujeres no gestantes a 3650 m s. n. m. fue de 2,6 g/dl.

La Figura 2 muestra la comparación de las concentraciones de hematocrito y hemoglobina entre mujeres gestantes a 3650 m s. n. m. (La Paz, Bolivia) y mujeres gestantes a nivel del mar (Caracas, Venezuela), se pudo observar que tanto la hemoglobina y el hematocrito de las gestantes

en altura son estadísticamente mayores en relación con las mujeres gestantes a nivel del mar.

CONCLUSIONES

Los valores hematológicos establecidos para las mujeres gestantes a nivel del mar son de 10 a 11 g/dl con respecto a la hemoglobina, 0,5 a 2,5 % para los reticulocitos y 34 ± 5 % para el hematocrito. Así mismo, la diferencia de hemoglobina entre mujeres gestantes y no gestantes a nivel del mar es de 1,8 g/dl ⁽⁶⁾.

A su vez, la diferencia de hemoglobina entre mujeres gestantes y no gestantes en la altura es variada. Un estudio realizado en Estados Unidos a 3100 m s. n. m. evidenció que la diferencia de la concentración de hemoglobina entre mujeres gestantes y mujeres no gestantes fue de 1,3 g/dl; de manera similar, otros estudios realizados en

Perú a 4300 m s. n. m. y en Tibet a 3658 m s. n. m. reportaron una diferencia de 0,9 g/dl y de 2,3 g/dl respectivamente ^(5, 7). Nuestro estudio establece una diferencia de hemoglobina de 2,6 g/dl entre mujeres gestantes y no gestantes residentes a 3650 msnm, similar a la población del Tibet pero mayor en contraste a las otras observadas a diferentes alturas ^(5, 7, 10, 14-16).

Las concentraciones de hemoglobina en mujeres no gestantes de las ciudades de La Paz y El Alto (15,9 g/dl) son estadísticamente diferentes a las concentraciones reportadas en otros estudios, en Norteamérica tanto a 1600 msnm y 3100 msnm se presentan concentraciones de 13,9 g/dl y 15,1 g/dl respectivamente ⁽⁵⁾. Otro estudio realizado en Perú a 4300 msnm muestra que la hemoglobina en mujeres no gestantes es de 14,0 g/dl ^(5,9), así mismo, los Himalayas situados a 3658 msnm presentan una concentración de hemoglobina de 14,9 g/dl ⁽¹⁰⁾. Consiguientemente, se puede evidenciar que la concentración de hemoglobina no siempre está relacionada con la altura, es decir que no existe un patrón lineal sobre la altura, esto probablemente debido a las adaptaciones genéticas de cada población.

Los resultados del presente estudio también muestran que la media de hematocrito en mujeres gestantes es 40,9 % y la concentración de hemoglobina de 13,7 g/dl. Se puede evidenciar que las mujeres gestantes presentan menor porcentaje de hematocrito, menor concentración de hemoglobina y un leve incremento en el porcentaje de reticulocitos en contraste con mujeres no gestantes a la misma altura (3650

a 4000 msnm). La disminución del porcentaje de hematocrito y hemoglobina se debe a una expansión fisiológica sanguínea, en el cual hay un incremento mayor del plasma sobre la masa eritrocitaria ^(2, 9, 11). No obstante, el incremento de reticulocitos probablemente se deba al incremento de la producción de eritropoyetina que trata de compensar la anemia fisiológica del embarazo ^(12, 13).

Las mujeres gestantes que habitan a 3650 msnm (La Paz) reflejan un porcentaje de hematocrito del 41 %, mientras que, las mujeres gestantes que habitan a nivel del mar (Caracas) reflejan un 34 %, diferencia estadísticamente significativa que permite observar que las mujeres habitantes de la altura presentan mayor porcentaje de hematocrito (Figura 2).

Así también, se puede observar que la concentración de hemoglobina de las mujeres gestantes habitantes a 3650 msnm (13,7 g/dl) es estadísticamente mayor al de las mujeres gestantes habitantes a nivel del mar (11,1 g/dl), esto como resultado de múltiples procesos de adaptación en la altura ^(8, 17, 18).

En conclusión, se puede evidenciar que los niveles de hematocrito y hemoglobina en mujeres habitantes a 3650 m s. n. m. disminuyen durante la gestación, además que la disminución de concentración de hemoglobina es mayor comparada a la de mujeres gestantes habitantes en otras alturas. Los valores hematológicos de las mujeres gestantes en la altura presentan diferencias estadísticamente significativas al ser comparados con los del nivel del mar, esto como consecuencia de la adaptación fisiológica y genética a la altura.

Referencias

1. Granizo Villacrés MG. Determinación de anemia a través de hematocrito y hemoglobina en mujeres embarazadas de 20 a 25 años en el Centro de Salud N° 3 área 1 Riobamba-Chambo 2012. Ecuador: Universidad de Guayaquil; 2014.
2. Bodnar LM, Siega-Riz AM, Arab L, Chantala K, McDonald T. Predictors of pregnancy and postpartum haemoglobin concentrations in low-income women. *Public health nutrition*. 2004 Sep;7(6):701-11. PubMed PMID: 15369607.
3. Gonzales GF, Gonzales C. Hierro, anemia y eritrocitosis en gestantes de la altura: riesgo en la madre y el recién nacido. *Revista Peruana de Ginecología y Obstetricia*. 2012;58(4):329-40.
4. Julian CG, Wilson MJ, Lopez M, Yamashiro H, Tellez W, Rodriguez A, et al. Augmented uterine artery blood flow and oxygen delivery protect Andeans from altitude-associated reductions in fetal growth. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2009;296:R1564-R75,.

5. Julian CG. High altitude during pregnancy. Clinics in chest medicine. 2011 Mar;32(1):21-31, vii. PubMed PMID: 21277446.
6. Gerardi G A, Marmo C O, Garcés D M, Ziegler P R, Goyo D L, Hernández M. Estudio del Metabolismo y Regulación del Hierro entre el recién nacido y su madre al momento del Nacimiento. Revista de la Facultad de Medicina. 2002;25:202-8.
7. Huey RB. High Altitude: An Exploration of Human Adaptation. Integrative and Comparative Biology. 2002 August 1, 2002;42(4):910.
8. Amaru R, Mamani J, Peñaloza R, Velarde J, Cuevas H. Caracterización clínica de la eritrocitosis patológica de altura. Revista de Hematología. 2016;17(1):8-20.
9. Moore LG. Maternal O₂ transport and fetal growth in Colorado, Peru, and Tibet high-altitude residents. American Journal of Human Biology. 1990;2(6):627-37.
10. Moore LG, Zamudio S, Zhuang J, Sun S, Droma T. Oxygen transport in Tibetan women during pregnancy at 3,658 m. American Journal of Physical Anthropology. 2001;114(1):42-53.
11. Moore LG, Shriver M, Bemis L, Hickler B, Wilson M, Brutsaert T, et al. Maternal adaptation to high-altitude pregnancy: an experiment of nature--a review. Placenta. 2004 Apr;25 Suppl A:S60-71. PubMed PMID: 15033310.
12. Canalejo K, Aixalá M, Casella A, Capanera P, Medina J, Jelen A. Evaluación de la fracción de reticulocitos inmaduros como parámetro de ferropenia en el embarazo. Acta Bioquím Clín Latinoam. 2011;45:81-5.
13. Rockwell LC, Vargas E, Moore LG. Human physiological adaptation to pregnancy: Inter- and intraspecific perspectives. American Journal of Human Biology. 2003;15(3):330-41.
14. Moore LG, Young D, McCullough RE, Droma T, Zamudio S. Tibetan protection from intrauterine growth restriction (IUGR) and reproductive loss at high altitude. American Journal of Human Biology. 2001;13(5):635-44.
15. Gonzales GF, Tapia V, Gasco M, Carrillo C. Hemoglobina materna en el Perú: diferencias regionales y su asociación con resultados adversos perinatales. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica. 2011;28(3):484-91.
16. Vargas M, Vargas E, Julian CG, Armaza JF, Rodriguez A, Tellez W, et al. Determinants of blood oxygenation during pregnancy in Andean and European residents of high altitude. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology. 2007;293(3):R1303-R12.
17. Amaru R, Miguez H, Peñaloza R, Torres G, Vera O, Velarde J, et al. Eritrocitosis patológica de altura: Caracterización biológica, diagnóstico y tratamiento. Revista Médica La Paz. 2013;19:5-18.
18. Huerta-Sanchez E, Jin X, Asan, Bianba Z, Peter BM, Vinckenbosch N, et al. Altitude adaptation in Tibetans caused by introgression of Denisovan-like DNA. Nature. 2014 Aug 14;512(7513):194-7. PubMed PMID: 25043035. Pubmed Central PMCID: 4134395.
19. Peñaloza Rosario, Amaru Ricardo, Miguez Hortensia, Torres Gina, AraozRuben, Alvarez Guillermo et al. Influencia de la altura en la eritropoyesis del recién nacido. Cuad.-Hosp. Clín. [online]. 2007; 52(1): 17-19. ISSN 1652-6776.

VALORES HEMATOLÓGICOS DE NEONATOS EN LA ALTURA (3650 msnm)

Araoz Ruben, Alvarez Guillermo, Villarroel Ligia, Patón Daniela, Mamani Felipe, Amaru Ricardo.

Hospital de la Mujer, La Paz, Bolivia.

Unidad de Biología Celular, Facultad de Medicina, UMSA, La Paz, Bolivia.

INTRODUCCIÓN

Por las características anatómo-fisiológicas, la madre y el recién nacido constituyen un modelo ideal para los estudios y la comprensión del metabolismo de numerosas moléculas, esto con el objetivo de garantizar la condición de bienestar de la madre y su recién nacido ⁽¹⁻³⁾. El bienestar del recién nacido y los valores hematológicos de la sangre de cordón umbilical están condicionados por diversos factores dependientes tales como condiciones de la madre, de la vida intrauterina, de factores genéticos y de factores externos como el ambiente de hipoxia presente en las grandes alturas ⁽¹⁻⁵⁾.

Por una parte, la eritropoyesis humana se inicia en el embrión a partir de la tercera semana después de la concepción. Posteriormente, la hematopoyesis en los 2 primeros meses de gestación se establece en el hígado, luego alrededor del sexto mes migra gradualmente hacia los espacios medulares, y en el nacimiento la mayor parte de la formación de sangre se produce normalmente en la médula ósea ⁽⁴⁻⁶⁾.

Estudios realizados por Oski y Nayman demostraron los factores que influyen en los resultados del hemograma del recién nacido, uno de ellos es la zona en la que se obtuvo la muestra de sangre; pero a su vez se evidenció que no existe diferencia entre la sangre tomada de la vena cubital y la de cordón umbilical ⁽⁷⁻¹⁰⁾.

Por otra parte, la eritrocitosis, tanto en hombres como en mujeres nativos de altura, se refleja en un mayor porcentaje del hematocrito y mayor concentración de hemoglobina con respecto a los valores del nivel del mar ⁽¹¹⁻¹³⁾. Esta eritrocitosis no

se observa en todas las edades, así el recién nacido en las grandes alturas presenta un hematocrito similar al nacido en el llano, asimismo, a nivel del mar la hemoglobina no tiene correlación con la hemoglobina fetal ^(9, 14-16).

Considerando lo anterior, el objetivo de este capítulo es determinar la influencia de la hipoxia de la altura sobre la eritropoyesis del recién nacido a través del análisis de valores hematológicos.

PROCEDIMIENTOS

Material y métodos

Se estudió 300 muestras de sangre venosa de cordón umbilical de niños nacidos vivos a término y 300 muestras de sangre venosa periférica de mujeres gestantes con controles prenatales, trabajo de parto, parto y alumbramiento normales, todas fueron atendidas en el Hospital de la Mujer de la ciudad de La Paz - Bolivia a 3650 m s. n. m.

La toma de muestra a los recién nacidos se realizó de la vena del cordón umbilical del tercio proximal a la placenta, previo clampeado al momento del nacimiento. Las muestras de las madres se obtuvieron por punción venosa durante el trabajo de parto. Las muestras sanguíneas fueron recolectadas en tubos vacutainer con EDTA.

Estudios Laboratoriales

La concentración de la hemoglobina y el porcentaje de hematocrito se realizaron por contador automático Micros 60 (Horiba ABX diagnostics) y por técnica manual: la hemoglobina por método colorimétrico (Kit Wiener lab, Argentina) y el porcentaje de hematocrito con centrifuga de microhematocrito (HAWKSLEY,

England); asimismo, el porcentaje de reticulocitos se realizó en placa con Azul Brillante de Cresil y el recuento de eritroblastos en frotis con tinción May Grünwald- Giemsa.

CARACTERÍSTICAS Y VALORES HEMATOLÓGICOS

La edad promedio y las características hematológicas de las mujeres gestantes están detalladas en el Cuadro 1.

Los recién nacidos presentaron peso adecuado, talla y puntuación APGAR al minuto y a los 5 minutos (Cuadro 2), así también, las características hematológicas observadas están descritas en el Cuadro 3.

Los valores estudiados en mujeres gestantes a 3650 m s. n. m. fueron comparados con los datos publicados a nivel del mar ⁽¹⁾ utilizando la prueba

estadística de T-test y el valor p. La edad entre ambas poblaciones fue similar, pero los valores de hematocrito y la concentración de hemoglobina fueron significativamente diferentes (Cuadro 4).

Los valores estudiados en los recién nacidos a 3650 m s. n. m. fueron comparados con los datos similares publicados a nivel del mar ^(1, 6) utilizando la prueba estadística T-test y el valor p. Los valores de peso, talla, hematocrito, hemoglobina, volumen corpuscular medio, reticulocitos y eritroblastos fueron significativamente similares (Cuadro 5).

CONCLUSIONES

Los valores hematológicos de las gestantes normales a término estudiados a 3650 m s. n. m. y comparados con los valores de habitantes a nivel del mar son estadísticamente diferentes; esto como consecuencia de la adaptación fisiológica

Cuadro 1. Valores hematológicos de mujeres gestantes

	Edad años	Ht %	Hb g/dl	Ret %
Promedio	24.8	40.9	13.6	1.9
DS	6.3	6.4	2.3	0.7
IC	19 - 23	40.2 - 41.7	13.4 - 13.9	1.8 - 1.9

Ht: hematocrito, **Hb:** hemoglobina, **Ret:** reticulocitos. Datos expresados en promedio, desviación estándar (DS) e intervalo de confianza (IC).

Cuadro 2. Características clínicas de los recién nacidos

	PESO g	TALLA cm	APGAR 1 min	APGAR 5 min
Promedio	3123	48.6	7.7	9.54
DS	640.9	7.8	0.95	0.68
IC	3051 - 3196	47.7 - 49.5	7.5 - 8.5	8.5 - 9.6

Datos expresados en promedio, desviación estándar (DS) e intervalo de confianza (IC).

Cuadro 3. Valores hematológicos de los recién nacidos

	Ht %	Hb g/dl	Ret%
Promedio	49.6	16.3	4.9
DS	7.3	2.4	1.5
IC	48.7 - 50.4	16 - 16.6	4.9 - 5.1

Ht: hematocrito, **Hb:** hemoglobina, **Ret:** reticulocitos. Datos expresados en promedio, desviación estándar (DS) e intervalo de confianza (IC).

a la altura. Datos similares han sido reportados en referencia a las diferencias hematológicas, valores hematológicos de mujeres y hombres comparados entre habitantes a nivel del mar y habitantes residentes de altura ^(11, 17-19).

Los valores hematológicos de los recién nacidos en la altura y los del nivel del mar son estadísticamente similares. Estos datos sugieren que la eritropoyesis fetal y la de los recién nacidos son independientes de los factores maternos y del ambiente hipóxico presente a 3650 m s. n. m. Esta eritropoyesis independiente de factores maternos y de ambiente hipóxico podría deberse a la barrera protectora que ejerce la placenta sobre el recién nacido, tal como lo han reportado los estudios de Gerardi ^(1, 9) .

Así también, los resultados de nuestro estudio son similares a los reportados por

otros autores, los cuales indican que el recién nacido en la altura presenta valores de pO2 arterial similares a los de nivel del mar, esto debido a que las adaptaciones maternas y placentarias logran que la tensión de oxígeno y los valores hematológicos de los tejidos fetales se mantengan dentro de los rangos fisiológicos normales, así por ejemplo, Reynafarge y otros estudiaron la médula ósea de recién nacidos en la altura y no hallalloron evidencia de un incremento de la eritropoyesis ⁽²⁰⁾. Por su parte, no encontraron diferencias anatómicas entre el tronco arterial pulmonar o el ventrículo derecho ni en los recién nacidos en la altura y ni en los del nivel del mar ⁽²¹⁾.

En conclusión, el mecanismo de adaptación fisiológica a la altura hace que el recién nacido sea un ‘recién llegado a la altura’ sin complicaciones.

Cuadro 4. Características hematológicas de mujeres gestantes a nivel del mar y mujeres gestantes a 3650 msnm

	EDAD / años	Ht %	Hb g /dl
3650 msnm	25 +/- 6.3	41 +/- 6.4	13. 7 +/- 2.2
nivel del mar	23.5 +/- 4.8	34 +/- 5	11.1 +/- 1.8
t	1.74	7.99	8.59
p	> 0.05	< 0.001	< 0.001

Ht: hematocrito, Hb: hemoglobina.

Cuadro 5. Características hematológicas de neonatos a nivel del mar y neonatos a 3650 msnm

	PESO g	TALLA cm	Ht %	Hb g/dl	VCM fl	Ret %	Eritrob %
3650 msnm	3123 +/- 641	48.6 +/- 7.8	49.6 +/- 7.3	16.3 +/- 2.5	109.1 +/- 3.8	4.9 +/- 1.5	1068 +/- 1400
nivel del mar	3036 +/- 457	49.1 +/- 2.7	49 +/- 4	15.7 +/- 1.2	110.1 +/- 10	4.6 +/- 1.4	880 +/- 850
t	1	0.49	0.62	1.81	1.62	1.53	1
p	> 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05

Ht: hematocrito, Hb: hemoglobina, VCM: volumen corpuscular medio, Ret: reticulocitos. Eritrob:Eritroblastos

Referencias

- Gerardi A, Marmo O, Garcés M, Ziegler R, Goyo L, Hernández M. Estudio del metabolismo y regulación del hierro entre el recién nacido y su madre al momento del nacimiento. *Revista de la Facultad de Medicina*. 2002;25(2):202-8.
- Gilmour J. Normal haemopoiesis in intra-uterine and neonatal life. *The Journal of Pathology and Bacteriology*. 1941;52(1):25-55.
- Agreda Gamboa NG. Aspectos hematológicos y somatométricos de recién nacidos en Cerro de Pasco. 2013.
- Tavassoli M. Embryonic and fetal hemopoiesis: an overview. *Blood cells*. 1991;17(2):269-81; discussion 82-6.
- Migliaccio AR, Migliaccio G. Human embryonic hemopoiesis: control mechanisms underlying progenitor differentiation in vitro. *Developmental biology*. 1988;125(1):127-34.
- Bain BJ, Bates I, Laffan MA. *Dacie and Lewis Practical Haematology E-Book*: Elsevier Health Sciences; 2016.
- Oski FA, Chimeno AZ, Naiman JL. Problemas hematológicos en el recién nacido: Edit. Científico-Médica; 1968.
- Walka M, Sonntag J, Kage A, Dudenhausen J, Obladen M. Complete blood counts from umbilical cords of healthy term newborns by two automated cytometers. *Acta haematologica*. 1998;100(4):167-73.
- Restrepo A, Ramírez J, Pulgarín L. Hemograma del recién nacido normal. *CES Medicina*. 1988;2(1):6-11.
- Calisaya Enriquez LC. Factores asociados a valores de hemoglobina y hematocrito en recién nacidos en el Hospital III Puno a una altura de 3827 msnm. 2019.
- Gonzales GF, Tapia V. Hemoglobina, hematocrito y adaptación a la altura: su relación con los cambios hormonales y el periodo de residencia multigeneracional. *Revista Med*. 2007;15(1):80-93.
- Amaru R, Quispe T, Torres G, Mamani J, Aguilar M, Miguez H, et al. Caracterización clínica de la eritrocitosis patológica de altura. *Revista de Hematología*. 2016;17(1):8-20.
- Amaru R, Amaru A, Miguez H, Gina T, Mamani J, Vera O, et al. Bolivian aymara natives with chronic mountain sickness have autonomous bfu-e growth. *Blood*. 2015;126:5206.
- Ccahuantico Choquevilca LA. Marcadores séricos del hierro de cordón umbilical en altura y nivel del mar, 2019. 2020.
- Ccallo Ccana HJ. Intervalos de referencia de parámetros hematológicos de recién nacidos a término, Unidad Nacional Materno Perinatal, Lima-2018. 2019.
- Peñaloza R, Amaru R, Miguez H, Torres G, Araoz R, Alvarez G, et al. Influencia de la altura en la eritropoyesis del recién nacido. *Cuadernos Hospital de Clínicas*. 2007;52(1):17-9.
- Montenegro Cusco DE. Valores hematológicos de referencia en mujeres embarazadas que acuden al Hospital General Enrique Garcés a 2.850 metros de altura en Quito. 2016.
- Gonzales GF. El punto de corte de la hemoglobina para definir anemia materna en la altura no debe ser corregido. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 2015;32:198-.
- Julian CG. High altitude during pregnancy. *Clinics in chest medicine*. 2011;32(1):21-31.
- Reynafarge C, editor *Observaciones en la médula osea del recién nacido de altura*. *Anales de la Facultad de Medicina*; 1959: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Saldaña M, Arias-stella J. Studies on the structure of the pulmonary trunk: I. Normal changes in the elastic configuration of the human pulmonary trunk at different ages. *Circulation*. 1963;27(6):1086-93.

VALORES DE HEMOGLOBINA EN LA POBLACIÓN DE CHOROLQUE A 5000 msnm

Cayo Emerson, Amaru Ricardo, Patón Daniela, Quispe Teddy, Mansilla Silvia, Luna Julieta.

Centro Integral de Salud Chorolque, Potosí, Bolivia.

Unidad de Biología Celular, Facultad de Medicina, UMSA, La Paz, Bolivia.

INTRODUCCIÓN

Los denisovanos fueron un grupo de homínidos que habitaron hace más de 160 000 años a una altura de 3280 m s. n. m. y transmitieron un gen (variante del gen EPAS1) que permitió a poblaciones actuales como los tibetanos hacer frente a alturas similares ⁽¹⁾. Los tibetanos montañoses así como los aymara andinos han habitado regiones de 4000 m s. n. m. o más desde hace ~ 44 000 y 14 000 años respectivamente ^(2, 3). A lo largo de ese tiempo, la historicidad del auge de la actividad minera y las necesidades para la vida hicieron que muchos andinos poblaran regiones de hasta 5000 metros de altura, tal el caso de la población de Chorolque en el departamento de Potosí en Bolivia. Chorolque es un distrito minero ubicado a 5000 m s. n. m. cuya actividad minera inició en el año 1787 aproximadamente y fue poblándose masivamente por aymaras y quechuas desde el año 1920, actualmente tiene una población de 5000 habitantes ^(4, 5).

Gracias a una selección positiva de genes implicados en el control de la eritropoyesis, los montañoses tibetanos evolucionaron hacia una concentración de hemoglobina similar a la de los habitantes a nivel del mar ^(2, 6); sin embargo, los andinos desarrollaron concentraciones de hemoglobina elevadas con relación a los habitantes a nivel del mar, esto probablemente debido a mecanismos de selección genética distintos o por un periodo insuficiente de exposición a grandes alturas ⁽⁷⁻¹⁰⁾. Estas variaciones hematológicas también tuvieron una repercusión en el desarrollo de enfermedades como la eritrocitosis, en el caso

de los tibetanos montañoses se sabe que dichos genes implicados les han permitido desarrollar mecanismos genéticos que los protegen de contraer eritrocitosis ⁽¹¹⁾, pero en los habitantes andinos esta patología aún es frecuente.

La eritrocitosis es entendida como el incremento patológico de la masa eritrocitaria en la sangre circulante; ocurre por encima del límite normal establecido en cada región y está asociada con aumento de la hemoglobina y del hematocrito. El cuadro clínico de las eritrocitosis patológicas se manifiesta mediante síntomas de hiperviscosidad sanguínea y complicaciones sistémicas. Los síntomas de hiperviscosidad se caracterizan por cefaleas, disneas, parestesias, acúfenos, hipersomnias e hiperemia; y las complicaciones sistémicas albergan eventos trombóticos, hipertensión arterial sistémica, hipertensión arterial pulmonar, hemorragia e insuficiencia cardíaca congestiva ⁽¹²⁾.

El punto de corte de los valores de hemoglobina es importante para el diagnóstico y tratamiento de la eritrocitosis. Al respecto, las concentraciones de hemoglobina en una población dependen de variables como edad, género, etnia y lugar o altura de residencia ^(13, 14, 15); así por ejemplo, en las ciudades de La Paz y El Alto, las concentraciones normales son de 14 a 17 g/dl para las mujeres y de 15 a 18 g/dl para los varones; asimismo, se considera eritrocitosis cuando el paciente tiene hemoglobina superior a 18 g/dl en mujeres y superior a 19 g/dl en varones ⁽¹²⁾. En lo que refiere a Chorolque, considerando todas las características de esta población, esta información hematológica requiere ser dilucidada.

De forma preliminar, este capítulo describe las concentraciones de hemoglobina y la prevalencia de eritrocitosis patológica en los habitantes de Chorolque residentes a una altura de 5000 ms.n.m.

PROCEDIMIENTOS

Material y métodos

Se realizó un estudio descriptivo transversal de tipo prospectivo. Una recolección retrolectiva de datos consideró la revisión de 1328 resultados de hemograma realizados en muestras de sangre venosa periférica de habitantes residentes en la población de Chorolque situada a 5000 m s. n. m. Asimismo, se recolectó los datos clínicos de los historiales médicos de esas personas.

Distribución de rangos y parámetros preliminares de hemoglobina

Del conjunto de resultados hematológicos y datos clínicos obtenidos, 1176 correspondieron a varones con una edad promedio de 39 años y 142 correspondieron a mujeres con una edad promedio de 45 años. Considerando la altura de residencia de estos sujetos (5000 m s. n. m) así como los datos publicados sobre las concentraciones normales de hemoglobina (varones <18 g/dl, mujeres <17g/dl) y la caracterización de las eritrocitosis patológicas (varones >19 g/dl, mujeres >18 g/dl) en las ciudades de La Paz y El Alto ^(12, 16), se estableció de modo preliminar parámetros normales de hemoglobina para la población de Chorolque contemplando concentraciones de hemoglobina comprendidas entre 17 a 20 g/dl en varones y entre 16 a 19 g/dl en mujeres.

También, se consideró presencia de eritrocitosis cuando las concentraciones de hemoglobina estuvieron por encima de 18 g/dl en mujeres y por encima de 19 g/dl en varones, además de las manifestaciones de sintomatología por hiperviscosidad sanguínea registradas en los historiales médicos.

VALORES DE HEMOGLOBINA Y PREVALENCIA DE ERITOCITOSIS

Concentraciones de hemoglobina

De los 142 resultados de hemograma correspondientes a mujeres (edad promedio de 45 años), se evidenció una concentración media de hemoglobina de 18.5 g/dl; mientras tanto, los 1176 resultados hematológicos correspondientes a varones (edad promedio de 39 años) reflejaron una concentración media de hemoglobina de 20.8 g/dl (Cuadro 1).

Parámetros normales preliminares de hemoglobina

Con relación a los parámetros preliminares de hemoglobina establecidos para la población de Chorolque, rangos entre 17 a 20 g/dl para varones y 16 a 19 g/dl para mujeres, la media de concentración de hemoglobina normal en mujeres con edad promedio de 44 años (n=83) fue 17.5 g/dl y en los varones con edad promedio de 37 años de edad (n=282) fue de 18.0 g/dl (Cuadro 2).

Frecuencia de eritrocitosis

Considerando eritrocitosis a concentraciones de hemoglobina superiores a 18 g/dl en mujeres y mayores a 19 g/dl en varones; se evidenció que, el 34 % de las mujeres presentaron eritrocitosis, la edad promedio fue de 47 años de edad, la concentración media de hemoglobina fue 20,7 g/dl y la máxima 24,4 g/dl (Cuadro 3). Del mismo modo, el 74 % de los varones presentaron eritrocitosis, la edad promedio fue 40 años de edad, la concentración media de hemoglobina fue 21,8 g/dl y la máxima 27,7 g/dl (Cuadro 4).

Concentraciones de hemoglobina por debajo de los parámetros normales preliminares

Considerando concentraciones de hemoglobina menores a 16 g/dl en mujeres y menores a 17 g/dl en varones; el 8 % de las mujeres (edad promedio de 47 años) reflejaron una concentración promedio de hemoglobina de 15,5 g/dl (± 0.1) y una mínima de 14,8 g/dl (Cuadro 3). Adicionalmente, el 2 % de los varones (edad promedio de 40 años)

Cuadro 1. Concentraciones de hemoglobina en los sujetos estudiados

Género	Nº	Hb g/dl	Rangos g/dl	Edad (años)
Femenino	142	18,5 ± 1,8	14,8 – 24,4	45 ± 12
Masculino	1176	20,8 ± 2,5	13,5 – 27,7	39 ± 10

Los datos están expresados en media aritmética y desviación estándar.

Cuadro 2. Concentraciones de hemoglobina respecto a parámetros normales preliminares

Género	Nº / Total	Hb g/dl	Edad, años
Femenino	83 / 142	17,5 ± 0,8	44 ± 12
Masculino	282 / 1176	18,0 ± 0,7	37 ± 10

Los datos de Hb y edad están expresados en media aritmética y desviación estándar.

Cuadro 3. Mujeres con eritrocitosis según concentración de hemoglobina y edad

Concentraciones Hb	Nº	%	Hb g/dl	Edad, años
<15 g/dl	11	8	15,5 ± 0,1	47 ± 15
15 – 18 g/dl	83	58	17,5 ± 0,8	44 ± 12
>18 g/dl	48	34	20,7 ± 1,5	47 ± 12
Total	142	100	18,5 ± 1,8	45 ± 12

Cuadro 4. Varones con eritrocitosis según concentración de hemoglobina y edad

Concentraciones Hb	Nº	%	Hb g/dl	Edad, años
<16 g/dl	25	2	15,8 ± 0,3	47 ± 15
16 – 19 g/dl	282	24	18,0 ± 0,7	37 ± 10
>19 g/dl	869	74	21,8 ± 2,0	40 ± 10
Total	1176	100	20,8 ± 2,5	39 ± 10

presentaron una concentración promedio de hemoglobina de 15,8 g/dl (± 0.3) y una mínima de 13,5 g/dl (Cuadro 4).

CONCLUSIONES

La concentración de los valores de hemoglobina en una población depende de la antigüedad radicatoria de dicha población en esa región o altura, radicatoria que puede ir desde miles de años a decenas de años. El origen étnico de la población, las mutaciones de los genes relacionados con la adaptación de ese grupo étnico, la edad y el género también están involucrados ⁽¹³⁻¹⁵⁾.

La información sobre la antigüedad de las

poblaciones resulta importante para comprender la adaptación genética que los habitantes de dichas poblaciones pueden haber desarrollado con el pasar de los años; así los tibetanos, con una permanencia a 4000 m s. n. m. desde hace 44 000 años, han logrado adquirir haplotipos/homocigotos de los genes EPAS1, EGLN1 and PKLR que les han permitido una adaptación hematológica completa^(6, 9); mientras que los andinos, con su permanencia en Los Andes a más de 4000 m s. n. m. desde hace 14 000 años han logrado adquirir parcialmente haplotipos/heterocigotos en los mismos genes que permitieron una adaptación hematológica completa a los tibetanos ^(17, 18).

En Chorolque, a 5000 m s. n. m, los habitantes que por motivos de trabajo en la minería residen ahí hacen que la población alcance un tiempo de radicancia de 100 años aproximadamente, en los cuales generalmente los migrantes fueron quechuas y aymaras que radicaban entre 2500 a 4000 m s. n. m. inicialmente; pese a esto, los ahora habitantes residentes a 5000 metros sobre el nivel del mar aparentemente no habrían logrado una adaptación hematológica ni parcial ni completa.

Los promedios generales de las concentraciones de hemoglobina de los habitantes de Chorolque, 18.5 g/dl en mujeres y 20.8 g/dl en varones, reflejan valores hematológicos no reportados o descritos en el territorio boliviano. Considerando los parámetros normales preliminares (varones 17 - 20 g/dl, mujeres 16 - 19 g/dl) y según la presencia o no de síntomas de hiperviscosidad sanguínea, los rangos de hemoglobina en Chorolque oscilan entre 14,8 a 24,4 en mujeres y entre 13,5 a 27,7 en varones.

Con relación a la prevalencia de eritrocitosis, los pacientes eritrocíticos en Chorolque corresponden

a 34 % mujeres y 74 % varones. Tomando en cuenta todos estos datos en Chorolque existen más habitantes con eritrocitosis en comparación a los normales.

De esta manera, este estudio representa una primera aproximación de las características hematológicas en Chorolque, investigaciones posteriores deben considerar estudios pormenorizados tales como realizar estudios biomoleculares para caracterizar tanto los valores normales de hemoglobina como las eritrocitosis patológicas en estos habitantes.

Agradecimientos

Al CIS Chorolque por la contribución en la provisión y recolección de datos, así como a la población de Santa Bárbara-Chorolque.

A las autoridades de Chorolque, Juan Mamani Mollo y Directorio de la Cooperativa Minera Chorolque, por la predisposición y conjunción de esfuerzos para apoyar la realización de estudios pormenorizados procurando el bienestar y mejora de la salud de sus habitantes.

Referencias

1. Warren M. Biggest Denisovan fossil yet spills ancient human's secrets. 2019.
2. Hu H, Petousi N, Glusman G, Yu Y, Bohlender R, Tashi T, et al. Evolutionary history of Tibetans inferred from whole-genome sequencing. *PLoS genetics*. 2017;13(4):e1006675.
3. Rademaker K, Hodgins G, Moore K, Zarrillo S, Miller C, Bromley GR, et al. Paleoindian settlement of the high-altitude Peruvian Andes. *Science*. 2014;346(6208):466-9.
4. Cañete PV. Guía histórica, geográfica, física, política, civil y legal del gobierno e intendencia de la provincia de Potosí: Fundación MAPFRE; 2001.
5. Reynaga Farfán M. Minería en los Chichas: época republicana. Primera edición. Tupiza: Huellas Chicheñas; 2010. 64 p. D.L.4-1-2044-10
6. Tashi T, Reading NS, Wuren T, Zhang X, Moore LG, Hu H, et al. Gain-of-function EGLN1 prolyl hydroxylase (PHD2 D4E: C127S) in combination with EPAS1 (HIF-2α) polymorphism lowers hemoglobin concentration in Tibetan highlanders. *Journal of Molecular Medicine*. 2017;95(6):665-70.
7. Petousi N, Robbins PA. Human adaptation to the hypoxia of high altitude: the Tibetan paradigm from the pregenomic to the postgenomic era. *Journal of applied physiology*. 2013;116(7):875-84.
8. Beall CM. Genetic changes in Tibet. Mary Ann Liebert, Inc. 140 Huguenot Street, 3rd Floor New Rochelle, NY 10801 USA; 2011.
9. Simonson TS, Yang Y, Huff CD, Yun H, Qin G, Witherspoon DJ, et al. Genetic evidence for high-altitude adaptation in Tibet. *Science*. 2010;329(5987):72-5.
10. Beall CM. Two routes to functional adaptation: Tibetan and Andean high-altitude natives. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2007;104(suppl 1):8655-60.
11. Lorenzo FR, Huff C, Myllymäki M, Olenchok B, Swierczek S, Tashi T, et al. A genetic mechanism for Tibetan high-altitude adaptation. *Nature genetics*. 2014;46(9):951.
12. Amaru R, Quispe T, Torres G, Mamani J, Aguilar M, Miguez H, et al. Caracterización clínica de la eritrocitosis patológica de altura. *Revista de Hematología*. 2016;17(1):8-20.

13. González-Patiño A, Robinson-Ortiz A. Valores de referencia de hemoglobinemia en población Colombiana de 1 a 18 años por género y altitud: Universidad del Rosario.
14. Gonzales GF, Tapia V. Hemoglobina, hematocrito y adaptación a la altura: su relación con los cambios hormonales y el periodo de residencia multigeneracional. *Revista Med.* 2007;15(1):80-93.
15. Peñaloza R, Amaru R, Miguez H, Torres G, Araoz R, Alvarez G, et al. Influencia de la altura en la eritropoyesis del recién nacido. *Cuadernos Hospital de Clínicas.* 2007;52(1):17-9.
16. Amaru Lucana R, Vera Carrasco O. Guía para el diagnóstico y tratamiento de las eritrocitosis patológicas en la altura. *Revista Médica La Paz.* 2016;22(2):70-7.
17. Amaru R, Song J, Reading NS, Gordeuk VR, Quispe T, Moore L, et al. Erythroid and cardiovascular high altitude-selected haplotypes in Andean aymaras and Tibetans. *Blood.* 2017;130(Supplement 1):2205-.
18. Crawford JE, Amaru R, Song J, Julian CG, Racimo F, Cheng JY, et al. Natural selection on genes related to cardiovascular health in high-altitude adapted Andeans. *The American Journal of Human Genetics.* 2017;101(5):752-67.

ADAPTACIÓN HEMATOLÓGICA DEL HABITANTE ANDINO A LA ALTURA

Amaru Ricardo, Quispe Teddy, Luna Julieta, Mancilla Silvia, Valencia Juan Carlos, Patón Daniela.

Unidad de Biología Celular, Facultad de Medicina, UMSA, La Paz, Bolivia.

INTRODUCCIÓN

Los mecanismos que emplea el organismo humano para enfrentar un ambiente de hipoxia a grandes alturas incluyen la acomodación, la aclimatación y la adaptación. La acomodación es entendida como la respuesta inicial a una exposición aguda, caracterizada por el aumento de la ventilación y la frecuencia cardíaca. La aclimatación por su parte es la respuesta a una exposición temporal, se caracteriza por el incremento de la eritropoyetina y la hemoglobina. Así también, el mecanismo de la adaptación está relacionado con una exposición permanente y el producto de las variaciones genéticas que permiten al organismo vivir en regiones de alturas sin grandes esfuerzos o limitaciones, implica muchas generaciones ^(1,2).

Al respecto de la adaptación a grandes alturas, un ejemplo concreto lo constituyen la adaptación de los tibetanos montañeses y los aymaras andinos que han habitado regiones de hasta 4000 m s. n. m. desde hace 44 000 y 14 000 años respectivamente ⁽³⁻⁵⁾. Una de las variaciones genéticas entre estas poblaciones recae en el fenotipo eritroide; los aymaras (3650 - 4150 m s. n. m.) reflejan niveles de hemoglobina incrementados, mientras que los tibetanos (4200 m s. n. m.) presentan concentraciones de hemoglobina similares a los del nivel del mar ⁽⁶⁻⁸⁾. Estas diferencias fenotípicas tienen bases genéticas, concretamente en un grupo de genes comprometidos en la regulación de la eritropoyesis.

En los tibetanos, se ha encontrado genes tales como el EPAS1 que codifica para la

proteína HIF-2 α , el EGLN1 que codifica la enzima PHD2 ⁽⁹⁾, el Piruvato quinasa que codifica la enzima PK-LR permitiendo regular la concentración de 2-3 DPG ⁽¹⁰⁻¹²⁾, además de, una alteración del gen NFkB1 que regula al HIF-1 α . Estos genes producen variantes fenotípicas que inducen cambios en la expresión génica para aumentar la eficiencia en la entrega de oxígeno a los tejidos así como disminuir el consumo del mismo ^(13, 14), promoviendo de ese modo la posibilidad de adaptación del organismo en un ambiente hipóxico ^(13, 15-17). Adicionalmente, se conoce que un tipo de haplotipos del gen EPAS1, únicos en los tibetanos, se originaron a partir de los denisovanos y se integraron al genoma tibetano por introgresión ⁽¹⁸⁾.

La variante tibetana PHD2 (prolil hidroxilasa 2), un regulador negativo de HIF codificado por el gen EGLN1, codifica en *cis* tanto PHD2^{D4E} como PHD2^{C127S} que en conjunto tienen una mayor actividad en hipoxia ⁽¹⁹⁾ y, unidos al haplotipo EPAS1 disminuyen la concentración de hemoglobina en los tibetanos montañeses protegiéndolos de presentar eritrocitosis ⁽¹⁵⁾. Así también, existen otros haplotipos enriquecidos en los tibetanos que incluyen polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) del gen Piruvato quinasa que codifican la enzima PK-LR específica del hígado y glóbulos rojos ^(20, 21).

Ahora bien, en los aymaras se ha descrito genes asociados con procesos en el sistema cardiovascular (BRINP3, NOS2 y TBX5) ⁽²²⁾ así como en la entrega del oxígeno (variante PKLR, enriquecida en tibetanos) ⁽²³⁾. En relación a la eritropoyesis, se ha reportado selección para el gen EGLN1

aseverando que regiones genómicas específicas intervienen positivamente en la adaptación a la altura ⁽²⁴⁾. Y recientemente, se describió un diferente empalme (splicing) alternativo del gen NFKB1 enriquecido en estos habitantes, esta variante del haplotipo NFKB1 destaca como uno de los principales factores en la adaptación de los aymaras andinos a la altura ^(25, 26).

De esta manera, el presente estudio pretende evaluar la asociación de los haplotipos de genes EPAS1, EGLN1, PKLR y NFKB1 entre aymaras y tibetanos además de su relación con la adaptación a la altura.

PROCEDIMIENTOS

Material y métodos

Se realizó un estudio analítico longitudinal de tipo prospectivo. La recolección retrolectiva de datos previamente publicados sobre los haplotipos EPAS1, EGLN1, PKLR y NFKB1 ^(15, 22, 23, 25-27) permitió analizar las variantes presentes en aymaras andinos (n=72) provenientes de Bolivia residentes a alturas por encima de 3650 m s. n. m. en relación con los tibetanos montañeses (n=347) residentes entre altitudes de 200 y 4300 m s. n. m. Datos adicionales acerca de los SNPs fueron obtenidos de la base de datos proporcionada por el equipo de investigación de la División de Hematología y Neoplasias Hematológicas del Departamento de Medicina Interna de la Universidad de Utah.

Los genotipos variantes estudiados fueron 10 SNPs EPAS1 (5 Denisovan, 5 No-Denisovan), PHD2^{D4E} y PHD2^{C127S} (del gen EGLN1), 7 SNPs PKLR (del gen PK); además de, 2 SNPs de la variante NFKB1. Asimismo, estos haplotipos variantes relacionados con la eritropoiesis en la altura fueron clasificados con base en las vías metabólicas de acción en que intervienen (Cuadro 1).

GENES INVOLUCRADOS EN LA ADAPTACIÓN A LA ALTURA

1. Vía del Factor Inducible por Hipoxia (HIF)

Concerniente al análisis de la vía del HIF, se diseñó un esquema representativo del mismo en

condiciones de normoxia e hipoxia (Figura 1).

Seguidamente, contrastando la presencia de SNPs EPAS1 en tibetanos y aymaras, se pudo observar que los aymaras andinos comparten solo 2 de las 5 variantes tibetanas EPAS1 No-Denisovan (Figura 2). También se evidenció que, las variantes tibetanas EPAS1 Denisovan están ausentes en los andinos (Figura 3), lo que respalda la conjetura de que los habitantes aymaras a gran altitud no comparten la misma ascendencia que los tibetanos ⁽¹⁸⁾.

Al respecto de los haplotipos del gen EGLN1, se observó que los aymaras habitantes en grandes alturas no tienen la mutación tibetana PHD2^{D4E} (Figura 4), empero la variante PHD2^{C127S} alcanza un 24 % (forma heterocigota).

2. Vía de la glucólisis (PKLR)

Similar a la anterior vía, para el análisis de la vía de la glucólisis se diseñó un esquema representativo en condiciones de normoxia e hipoxia (Figuras 5 y 6).

Se pudo observar que, el haplotipo PKLR ‘tibetano’ seleccionado está presente en aproximadamente la mitad de los aymaras, lo que podría contribuir a su adaptación en condiciones de hipoxia (Figura 6).

3. Vía del Factor Nuclear kappa B (NFkB1)

Respecto del análisis de la vía del NFKB1, se diseñó un esquema representativo en condiciones de normoxia (Figura 7). Los cambios moleculares del gen NFKB1 descritos en este capítulo corresponden a un haplotipo enriquecido en los aymaras ⁽²⁶⁾, presente en un 91 % (Figura 8).

Interacción entre las vías HIF y NFKB1

Existe también una estrecha interacción entre las vías HIF y NFKB1. Ante un ambiente hipóxico, la enzima PHD2 disminuye la hidroxilación del HIF1 α y del IKK (IKB Kinasa) permitiendo la estabilización del HIF1 α y del NFKB1, estos migran al núcleo (DNA) y se unen a sus respectivas secuencias de Elemento de Respuestas (HIF1 α Response Element = HRE; NFKB1 Response Element = NRE). Ambos interactúan a

nivel del DNA y el resultado final es el aumento de la eritropoyetina, seguida del aumento de la eritropoyesis; sin embargo, ante la presencia de la enzima variante EGLN1, las vías del NFKB1 y del HIF1 α se bloquean y dan lugar a la disminución de la eritropoyesis ^(28, 29) (Figura 9).

ADAPTACIÓN HEMATOLÓGICA A LA ALTURA

Los humanos habitan una variedad de ambientes y están expuestos a una gran cantidad de presiones selectivas, lo que conlleva múltiples adaptaciones genéticas en condiciones ambientales locales, tales como la altura de residencia, exposición a rayos UV, dieta, estilo de vida y otros. Esto ha generado importantes diferencias genéticas y fenotípicas entre las poblaciones, las cuales pueden deberse a su vez a múltiples genes que interactúan entre sí ^(9, 30, 31).

Los habitantes de grandes alturas demandan mayor cantidad de oxígeno (O₂) para el metabolismo celular, entonces las células presentan cambios en la expresión génica para aumentar la eficiencia en la entrega de O₂ a los tejidos y disminuir el consumo del mismo ^(13, 14), posibilitando la adaptación del organismo a un ambiente hipóxico ⁽¹³⁾. Así, los humanos se han ido adaptando a condiciones de hipoxia crónica de gran altitud en diferentes lugares, y estas adaptaciones tienen bases genéticas. En los

tibetanos, por ejemplo, se ha encontrado el gen EPAS1 que codifica para HIF-2 α y el gen EGLN1 que codifica la enzima PHD2 ⁽⁹⁾, además de, el gen Piruvato Kinasa que regula la concentración 2,3 DPG ⁽¹⁰⁻¹²⁾ y la alteración del gen NFKB1, este último enriquecido en los Aymaras ⁽²⁶⁾.

Entonces, los habitantes a nivel del mar, en condiciones de normoxia y genes normales, tienen una concentración de hemoglobina normal. Los tibetanos montañoses, en condiciones de hipoxia y con mayor porcentaje de haplotipos, tienen niveles normales de hemoglobina que permiten aludir una adaptación hematológica completa. Por su parte, los aymaras andinos, en condiciones de hipoxia y con un bajo porcentaje de haplotipos, tienen niveles de hemoglobina elevados, lo que sugiere una adaptación hematológica parcial.

Los haplotipos de la vía del factor inducible por hipoxia disminuyen la proteína HIF2 α , los haplotipos de la vía de la glucólisis aumentan los niveles DPG, y los haplotipos de la vía de señalización de NFKB1 disminuyen HIF1 α . Consecuentemente, HIF2 α disminuido, HIF1 α disminuido y DPG aumentado inducen la inhibición de la eritropoyesis y mejoran el suministro de oxígeno a los tejidos, dando lugar a lo que podría ser el mecanismo de adaptación hematológica en los hombres andinos residentes a gran altitud (Figura 10).

Cuadro 1. Genes relacionados con la adaptación hematológica a grandes alturas

1. Vía del Factor Inducido por Hipoxia (HIF) • Gen EPAS1, que codifica la proteína HIF-2a – SNPs EPAS1 No-Denisovan (Non-Denisovan like EPAS1 SNPs) – SNPs EPAS1 Denisovan (Denisovan-like EPAS1 SNPs) • Gen EGLN1, que codifica la enzima PHD2 – Haplotipo PHD2^{D4E} – Haplotipo PHD2^{C127S} 2. Vía de la glucólisis (PKLR) • Gen PKLR, que codifica la enzima Piruvato Quinasa-LR 3. Vía del Factor Nuclear kappa B (NFkB) • Gen NFKB1, que codifica la proteína NFkB1 (p50)

El cuadro muestra SNPs y haplotipos de genes relacionados con la eritropoyesis en andinos bolivianos a gran altitud ^(15, 23, 26, 27, 32).

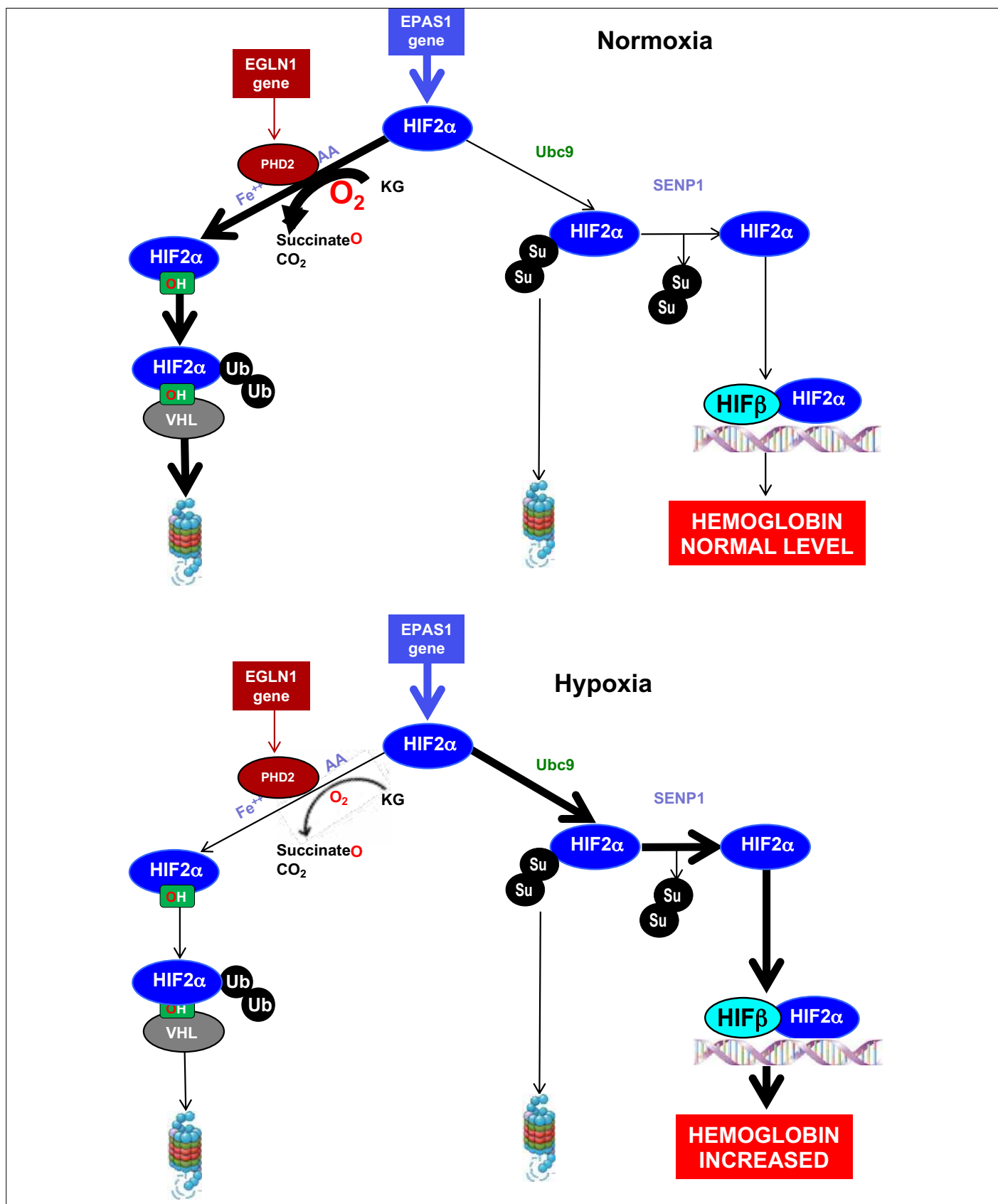


Figura 1. Esquema de la Vía del HIF en condiciones fisiológicas. En condiciones de normoxia, los proteasomas degradan el HIF 2 alfa; mientras que, en condiciones de hipoxia, HIF 2 alfa se estabiliza. Este HIF 2 alfa codifica varias proteínas involucradas en la eritropoyesis que conducen a un aumento en los niveles de hemoglobina.

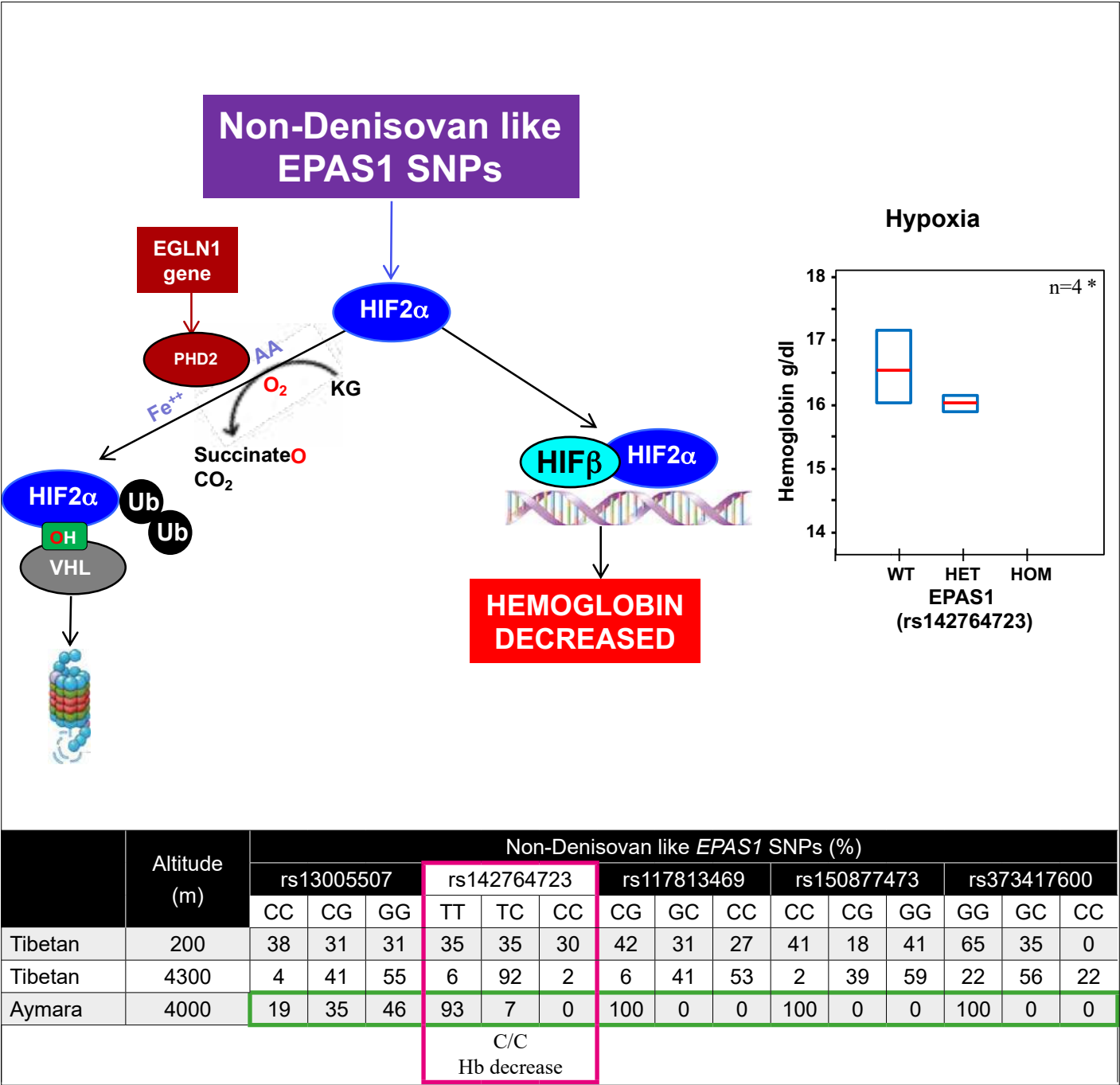
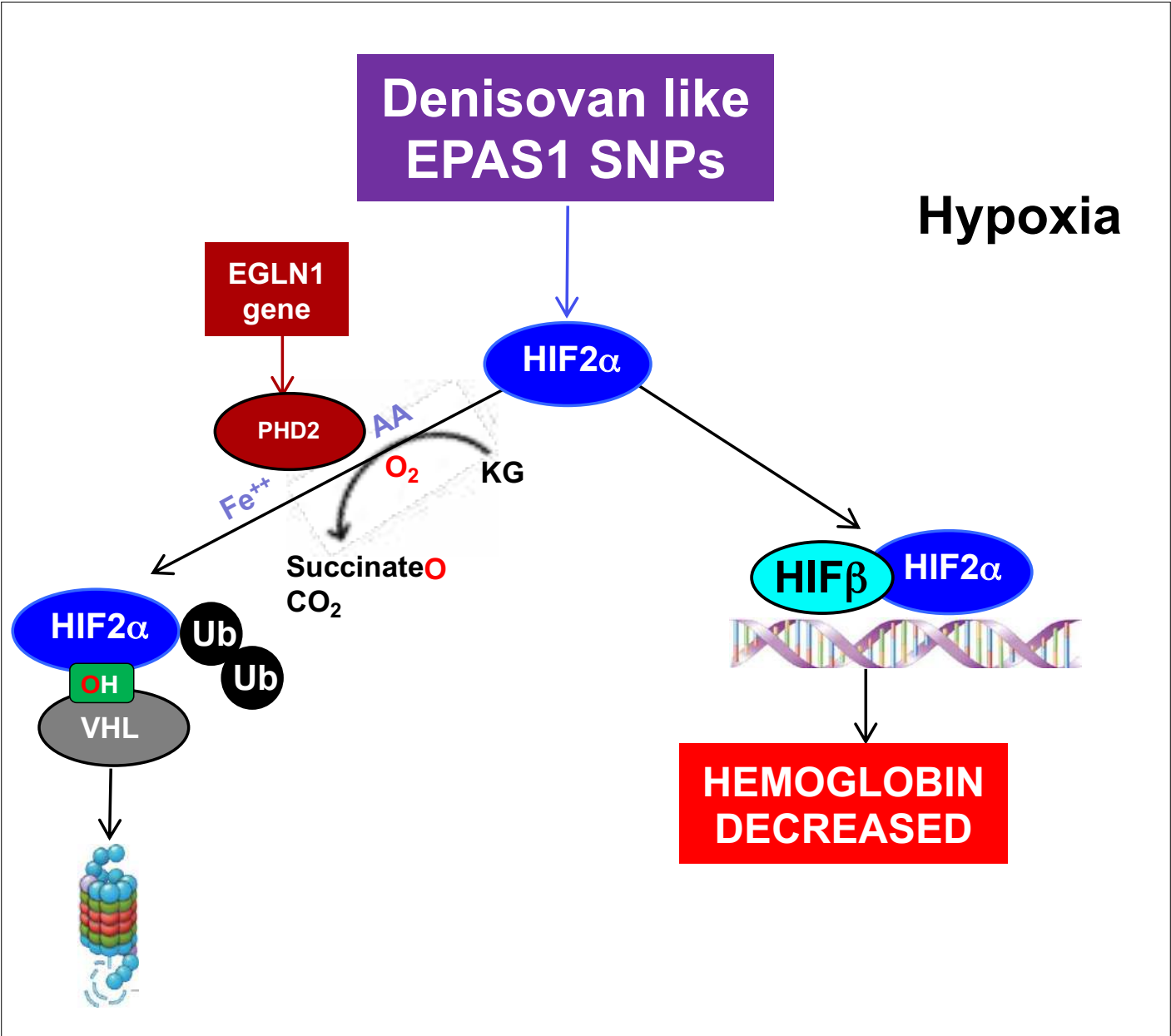


Figura 2. Vía del HIF con SNPs EPAS1 No-Denisovan. Los SNPs Non-Denisovan like *EPAS1*, en condiciones de hipoxia, inducen la degradación de HIF2a por los proteosomas, por tanto, disminuyen los niveles altos de hemoglobina. Los tibetanos montañoses (4300 m) tienen SNPs más homocigotos que los tibetanos de las tierras bajas (200 m). Estos SNPs también están presentes en los aymara andinos, pero con pocos SNPs. Los niveles de hemoglobina en aymaras con alelos heterocigotos son bajos en relación con los que no tienen este tipo de SNPs. * n=4, representa controles normales.



	Altitude (m)	Denisovan-like <i>EPAS1</i> Variants (%)														
		rs11305133			rs1888801636			rs61151542			rs77111769			rs149306391		
		AA	AG	GG	AA	AG	GG	GG	GA	AA	TT	TC	CC	GG	GC	CC
Tibetan	200	56	26	18	39	19	42	42	16	42	35	35	30	48	11	41
Tibetan	4300	12	57	31	2	41	57	4	42	54	2	40	58	4	42	54
Aymara	4000	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0

Figura 3. Vía del HIF con SNPs EPAS1 Denisovan. *Los aymaras residentes de grandes alturas no presentan la variante EPAS1-Denisovan, confirmando la inexistencia de una relación genética entre los Denisovan y los Aymaras.*

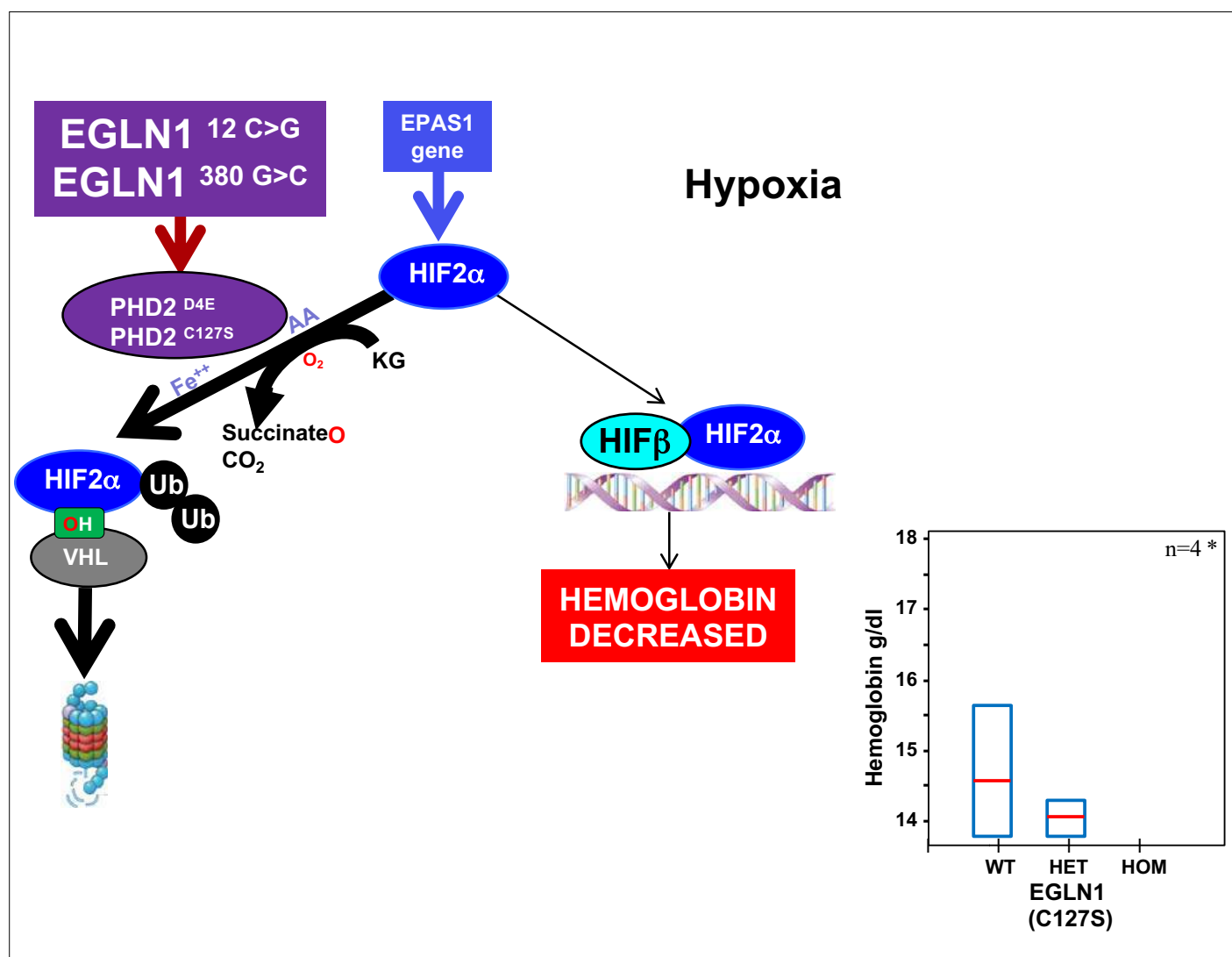
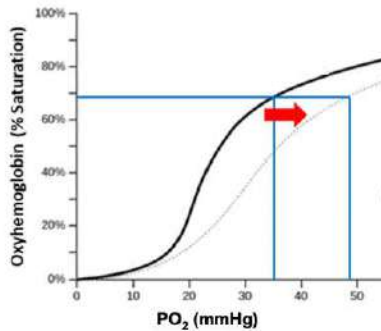


Figura 4. Vía del HIF con haplotipos EGLN1 (PHD2). Los haplotipos EGLN1 y PHD2, en condiciones de hipoxia, inducen la degradación del HIF2α por los proteosomas, por lo tanto, los niveles altos de hemoglobina disminuyen. Los tibetanos de tierras altas tienen formas más homocigotas que los tibetanos de tierras bajas; mientras tanto los Aymara andinos tienen solo el 24% (heterocigosis) del haplotipo PHD2C127S. Los niveles de hemoglobina en aymaras con alelos heterocigotos son bajos en relación a controles normales. * n=4, representa controles normales.

Normoxia



Decreasing the oxygen-hemoglobin affinity and improve the oxygen delivery to tissues

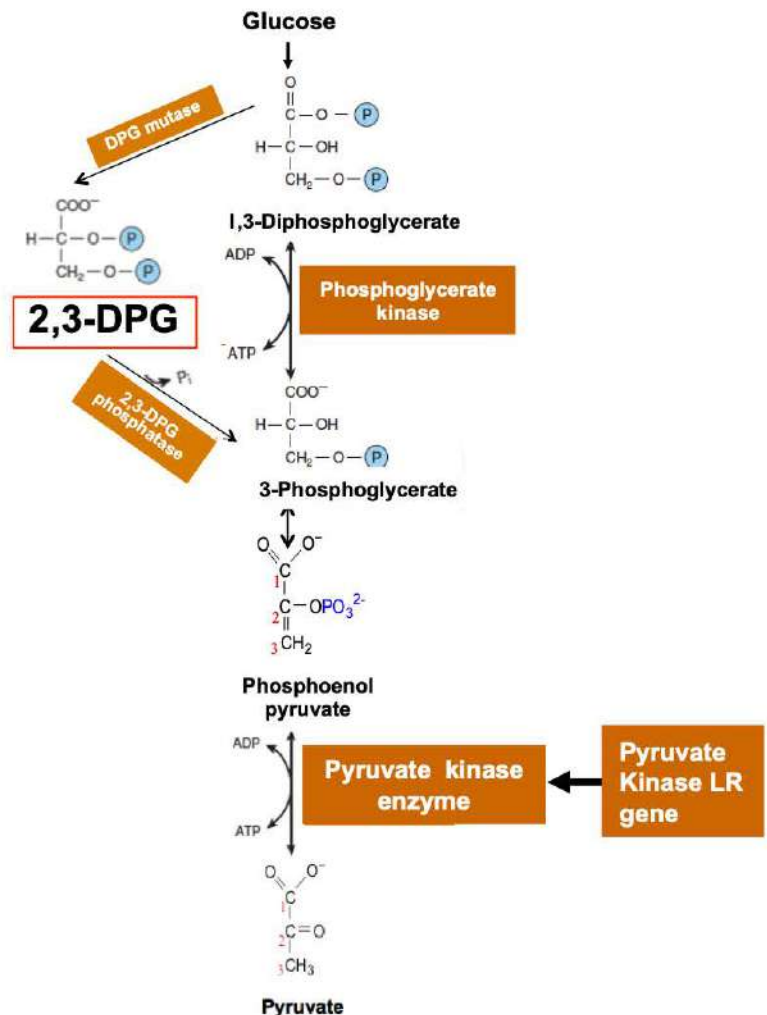
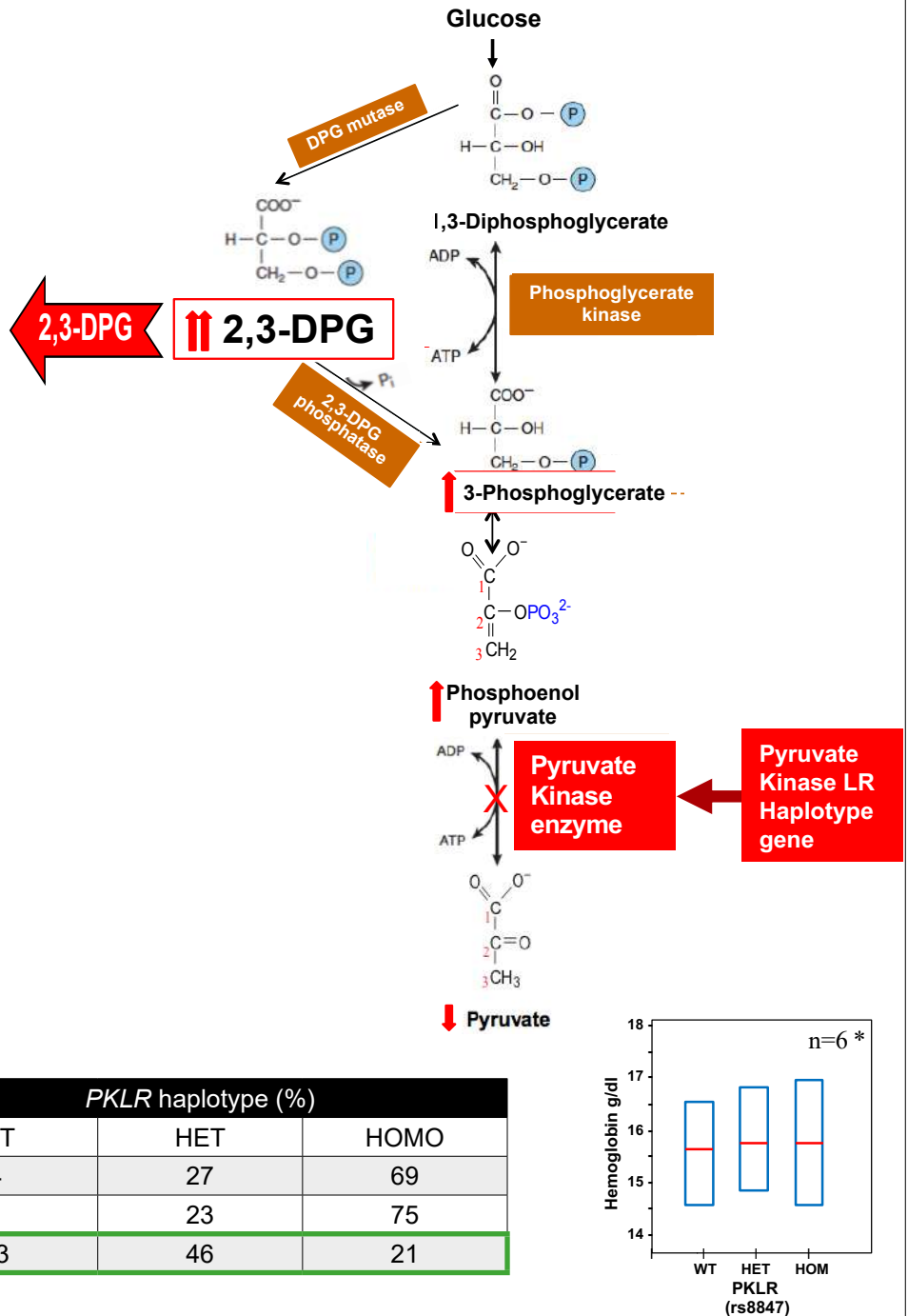
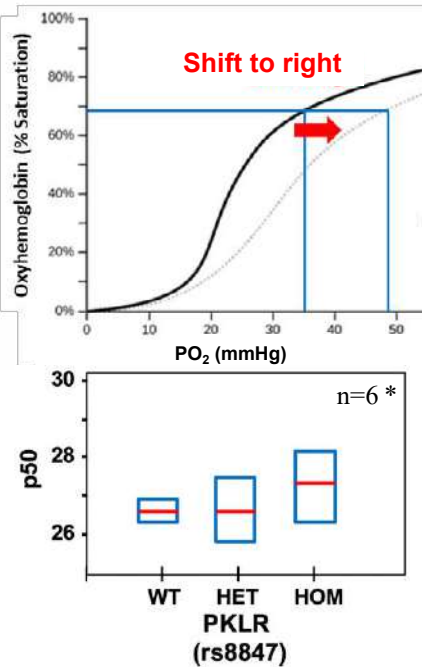


Figura 5. Esquema de la Vía de la glucólisis en condiciones fisiológicas. En condiciones de normoxia, los niveles de DPG dependen de la actividad de la enzima piruvato quinasa. Cuando la actividad del piruvato quinasa aumenta, el nivel de DPG disminuye; e inversamente, cuando la actividad del piruvato quinasa disminuye, el nivel de DPG aumenta. Los niveles de DPG son responsables de disminuir la afinidad oxígeno-hemoglobina y esto mejora el suministro de oxígeno a los tejidos.

Hipoxia



	Altitude (m)	PKLR haplotype (%)		
		WT	HET	HOMO
Tibetan	200	4	27	69
Tibetan	4300	1	23	75
Aymara	4000	33	46	21

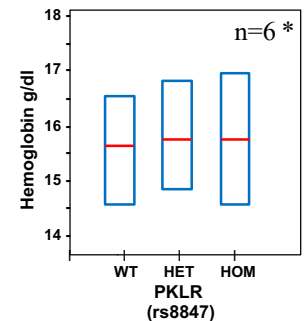


Figura 6. Vía de la glucólisis con el haplotipo variante PKLR. En condiciones de hipoxia, los haplotipos PKLR reducen la actividad de la enzima piruvato quinasa, por tanto, los niveles de DPG aumentan y este cambio de DPG hacia la derecha mejora el suministro de oxígeno a los tejidos. La forma homocigótica del haplotipo PKLR está presente tanto en los tibetanos montañoses como en los tibetanos de las tierras bajas. En los Aymaras, este haplotipo PKLR alcanza alrededor del 67%, en ellos el p50 se desplaza hacia la derecha disminuyendo la afinidad de oxígeno-hemoglobina, mejorando el suministro de oxígeno a los tejidos, y como era de esperar no hay cambios en los valores de hemoglobina. *n=6 representa controles normales.

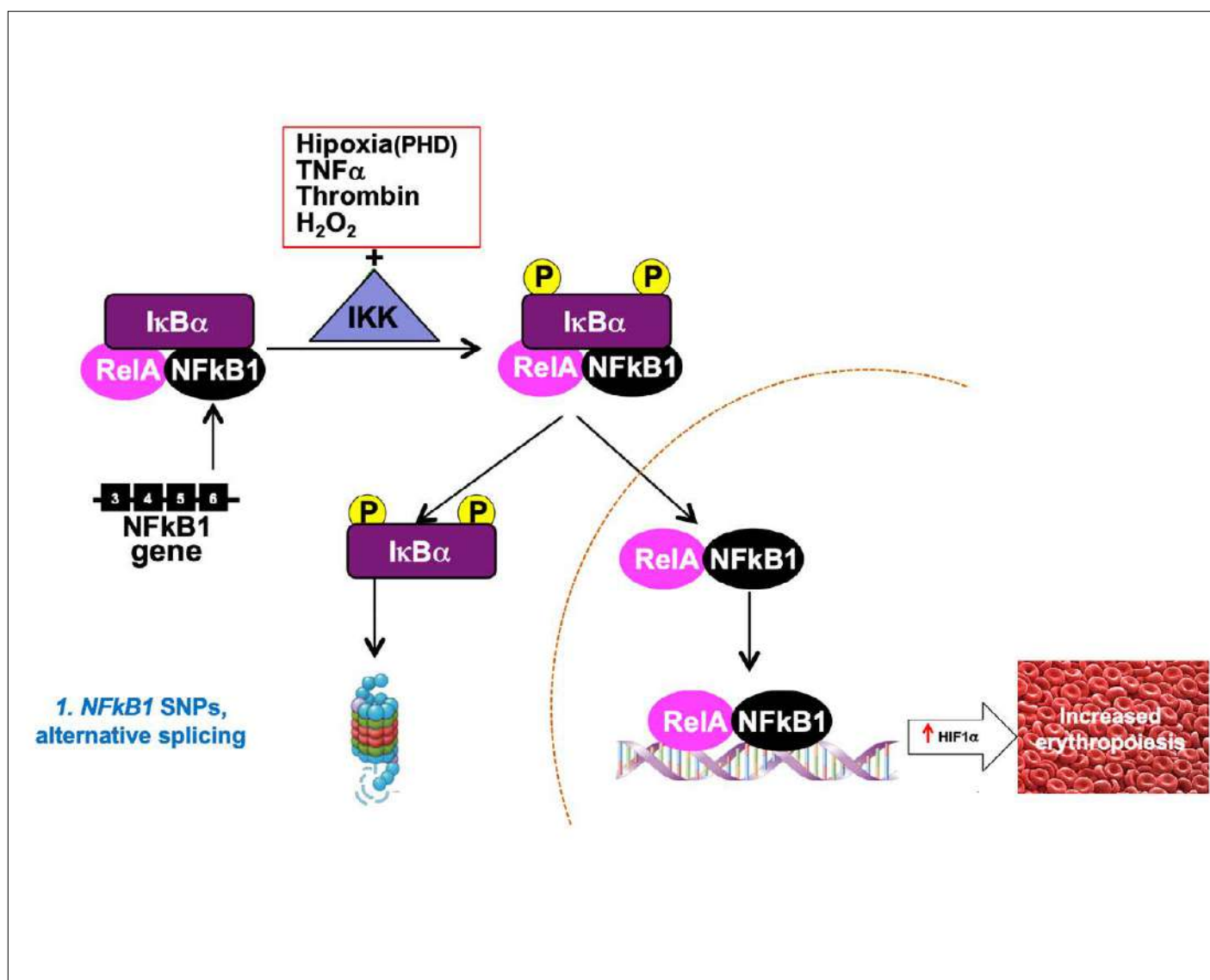


Figura 7. Vía del Factor Nuclear kappa B (NFκB1) en condiciones fisiológica. En la vía de señalización de NFKB1, el gen NFKB1 codifica la proteína NFKB induciendo la síntesis de HIF1a, este a la vez induce el aumento de la eritropoyetina, con una respuesta final en el incremento de la eritropoyesis.

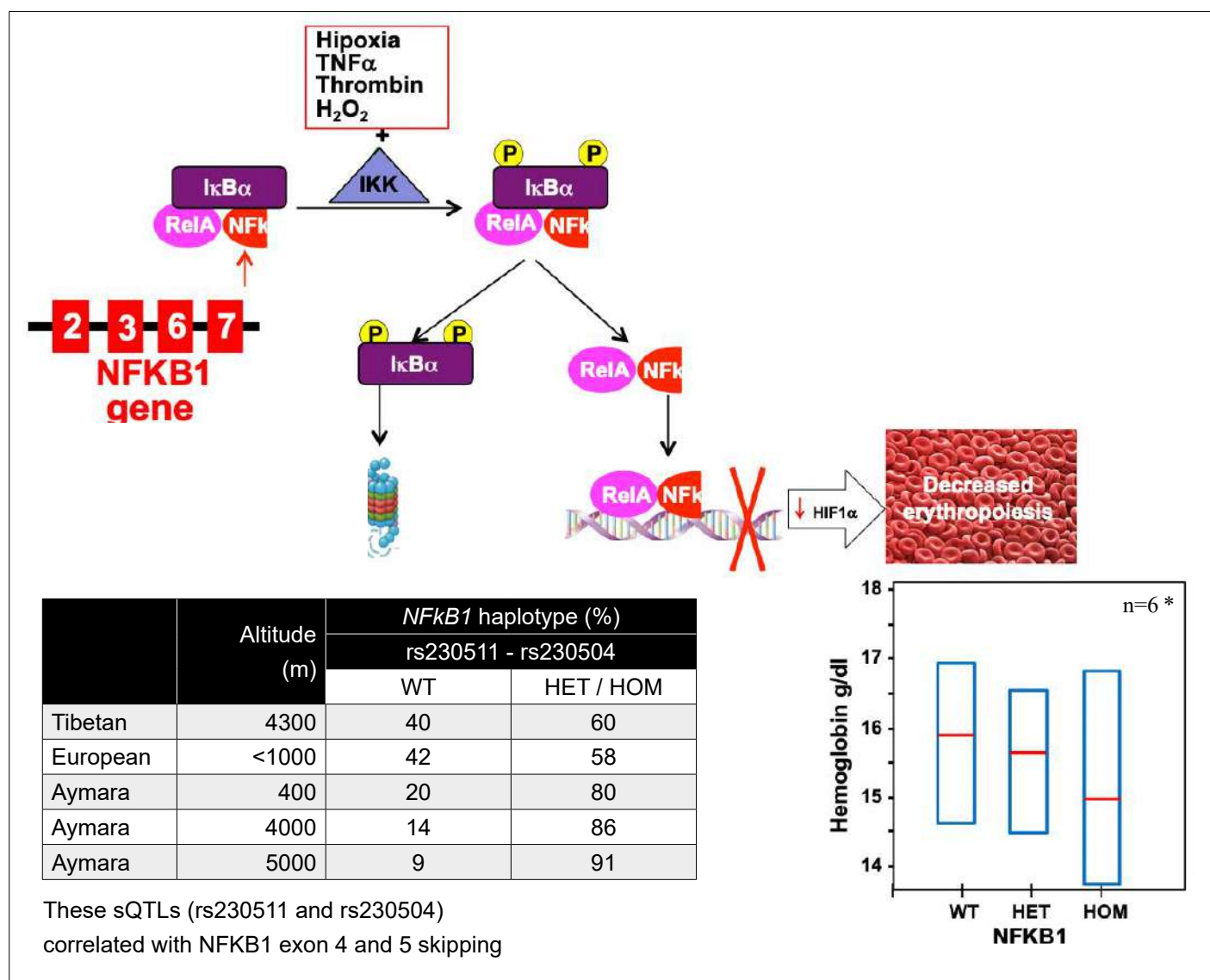


Figura 8. Vía del NFκB con SNPs NFKB1. *Haplotipo NFKB1 enriquecido en los Aymaras andinos. Existe un splicing alternativo que omite el exón 4 y/o el exón 5, y esta alteración codifica una proteína NFKB1 pequeña no funcional que bloquea la síntesis de HIF1α y conduce a una disminución de la eritropoyesis. Asimismo, la forma homocigota NFKB1 en los Aymaras muestra un porcentaje más alto en relación con los tibetanos y los europeos. *n=6, representa controles normales.*

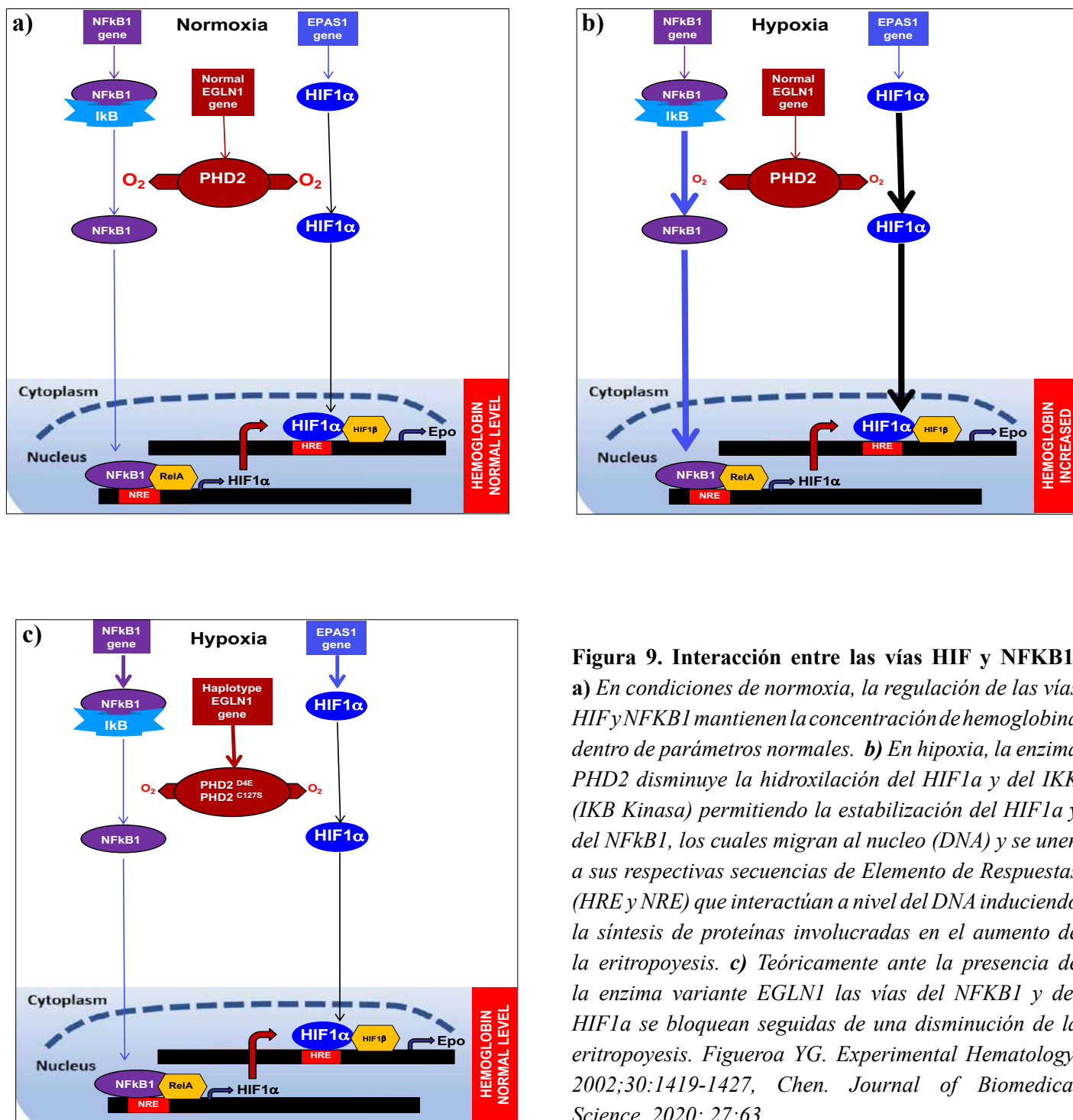


Figura 9. Interacción entre las vías HIF y NFkB1.
a) En condiciones de normoxia, la regulación de las vías HIF y NFkB1 mantienen la concentración de hemoglobina dentro de parámetros normales. **b)** En hipoxia, la enzima PHD2 disminuye la hidroxilación del HIF1α y del IKK (IKB Kinasa) permitiendo la estabilización del HIF1α y del NFkB1, los cuales migran al núcleo (DNA) y se unen a sus respectivas secuencias de Elemento de Respuestas (HRE y NRE) que interactúan a nivel del DNA induciendo la síntesis de proteínas involucradas en el aumento de la eritropoyesis. **c)** Teóricamente ante la presencia de la enzima variante EGLN1 las vías del NFkB1 y del HIF1α se bloquean seguidas de una disminución de la eritropoyesis. Figueroa YG. *Experimental Hematology*. 2002;30:1419-1427, Chen. *Journal of Biomedical Science*. 2020; 27:63

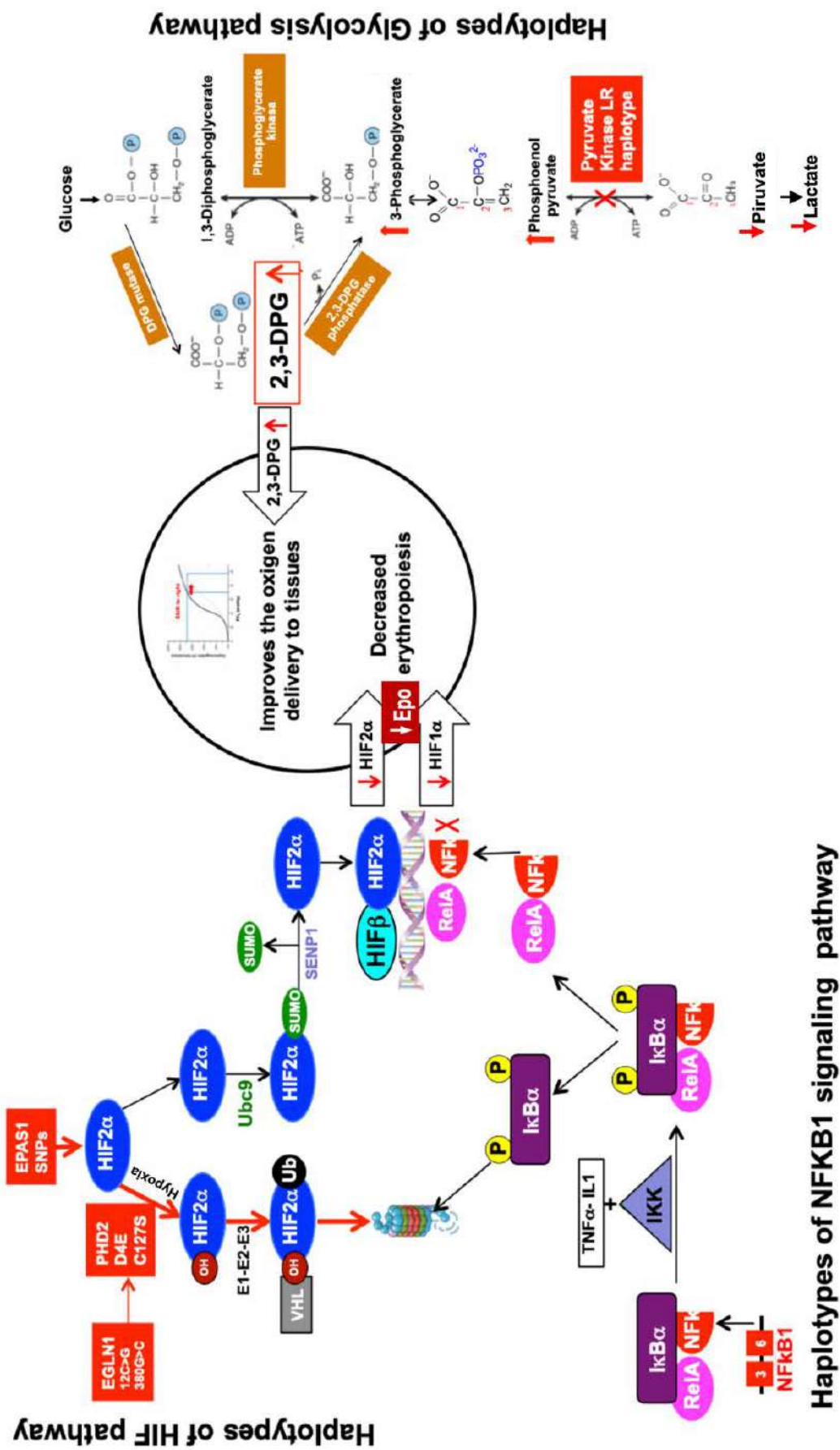


Figura 10. Mecanismo de adaptación hematológica en aymaras andinos. Se observa las modificaciones involucradas en la adaptación a la altura: disminución de HIF2α e HIF1α que disminuyen la eritropoyesis, y por el otro lado el incremento de DPG que mejora la entrega del oxígeno a los tejidos.

Sin embargo, quedan habitantes de grandes alturas que viven en condiciones de hipoxia, con genes normales o un porcentaje muy bajo de haplotipos, que tienen concentraciones de hemoglobina aún mayores, lo que supone una adaptación hematológica ausente (no adaptación) en este grupo. Los pacientes con eritrocitosis corresponden a este grupo.

De esta manera, se puede observar que los tibetanos montañoses y los aymaras andinos comparten haplotipos en común, pero también

tienen haplotipos enriquecidos específicos (Figura 11), y considerando esto, se puede conjeturar que los aymaras están en vías de adaptación.

Agradecimientos

Agradecemos a Josef T. Prchal y Jihyun Song de la División de Hematología y Neoplasias Hematológicas de la Universidad de Utah-EE.UU. por el asesoramiento y los datos proporcionados sobre la población tibetana.

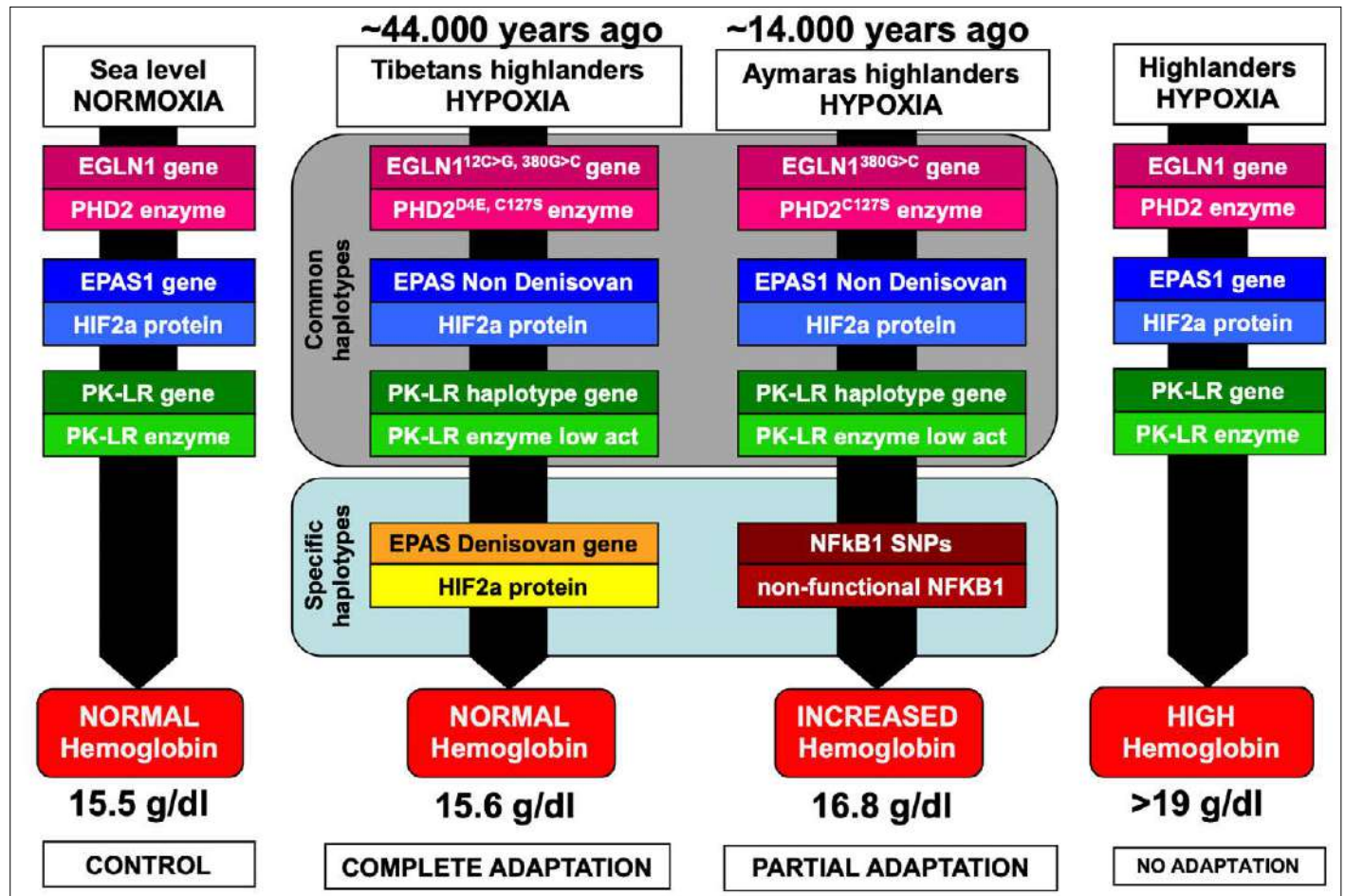


Figura 11. Genes involucrados con la adaptación hematológica a la altura. Los tibetanos de grandes alturas presentan variantes de haplotipos que permiten una adaptación hematológica completa (Hb Normal); mientras que, los Aymaras a 4000 msnm presentan pocas variantes y por ello presentan una adaptación hematológica parcial (Hb ligeramente incrementada). Aquellos que no presentan haplotipos variantes carecen de adaptación hematológica (Hb muy incrementada).

Referencias

- Gonzales GF. Hemoglobina y testosterona: importancia en la aclimatación y adaptación a la altura. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 2011;28(1):92-100.
- Noel-Jorand M, Burnet H. Changes in human respiratory sensation induced by acute high altitude hypoxia. *Neuroreport*. 1994;5(13):1561-6.
- Hu H, Petousi N, Glusman G, Yu Y, Bohlender R, Tashi T, et al. Evolutionary history of Tibetans inferred from whole-genome sequencing. *PLoS genetics*. 2017;13(4).
- Rademaker K, Hodgins G, Moore K, Zarrillo S, Miller C, Bromley GR, et al. Paleoindian settlement of the high-altitude Peruvian Andes. *Science*. 2014;346(6208):466-9.
- Julian CG, Moore LG. Human Genetic Adaptation to High Altitude: Evidence from the Andes. *Genes*. 2019;10(2):150.
- Beall CM, Cavalleri GL, Deng L, Elston RC, Gao Y, Knight J, et al. Natural selection on EPAS1 (HIF2 α) associated with low hemoglobin concentration in Tibetan highlanders. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2010;107(25):11459-64.
- Ronen R, Zhou D, Bafna V, Haddad GG. The genetic basis of chronic mountain sickness. *Physiology*. 2014;29(6):403-12.
- Simonson TS. Altitude adaptation: a glimpse through various lenses. *High altitude medicine & biology*. 2015;16(2):125-37.
- Bigham AW, Lee FS. Human high-altitude adaptation: forward genetics meets the HIF pathway. *Genes & development*. 2014;28(20):2189-204.
- Moore LG, Brewer GJ. Beneficial effect of rightward hemoglobin-oxygen dissociation curve shift for short-term high-altitude adaptation. *The Journal of laboratory and clinical medicine*. 1981;98(1):145-54.
- Dempsey JA. With hemoglobin as with politics-should we shift right or left? *The Journal of Physiology*. 2020.
- Milledge J. Hypobaric: High Altitude, Aviation Physiology, and Medicine. *Cotes' Lung Function*. 2020:615-37.
- Semenza GL. The Genomics and Genetics of Oxygen Homeostasis. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*. 2020;21.
- Samanta D, Semenza GL. Metabolic adaptation of cancer and immune cells mediated by hypoxia-inducible factors. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*. 2018;1870(1):15-22.
- Tashi T, Reading NS, Wuren T, Zhang X, Moore LG, Hu H, et al. Gain-of-function EGLN1 prolyl hydroxylase (PHD2 D4E: C127S) in combination with EPAS1 (HIF-2 α) polymorphism lowers hemoglobin concentration in Tibetan highlanders. *Journal of Molecular Medicine*. 2017;95(6):665-70.
- Prabhakar NR. 2019 Nobel Prize in Physiology or Medicine. American Physiological Society Bethesda, MD; 2020.
- Chan X, Eoh J, Volkova E, Black R, Fang L, Gorashi R, et al. HIF2A Gain-of-Function Mutation Modulates the Stiffness of Smooth Muscle Cells and Compromises Vascular Mechanics.
- Huerta-Sánchez E, Jin X, Bianba Z, Peter BM, Vinckenbosch N, Liang Y, et al. Altitude adaptation in Tibetans caused by introgression of Denisovan-like DNA. *Nature*. 2014;512(7513):194-7.
- Lorenzo FR, Huff C, Myllymäki M, Olenchok B, Swierczek S, Tashi T, et al. A genetic mechanism for Tibetan high-altitude adaptation. *Nature genetics*. 2014;46(9):951.
- Simonson TS, Yang Y, Huff CD, Yun H, Qin G, Witherspoon DJ, et al. Genetic evidence for high-altitude adaptation in Tibet. *Science*. 2010;329(5987):72-5.
- Yi X, Liang Y, Huerta-Sanchez E, Jin X, Cuo ZXP, Pool JE, et al. Sequencing of 50 human exomes reveals adaptation to high altitude. *science*. 2010;329(5987):75-8.
- Amaru R, Song J, Reading NS, Gordeuk VR, Quispe T, Moore L, et al. Erythroid and cardiovascular high altitude-selected haplotypes in Andean aymaras and Tibetans. *Blood*. 2017;130(Supplement 1):2205-.
- Song J, Abello V, Amaru R, Sergueeva A, Isakova J, Kosinski PA, et al. Tibetan Enriched PKLR Variant Is Beneficial to High Altitude Adaption By Improving Oxygen Delivery. *Blood*. 2018;132(Supplement 1):1027-.
- Bigham AW, Julian CG, Wilson MJ, Vargas E, Browne VA, Shriver MD, et al. Maternal PRKAA1 and EDNRA genotypes are associated with birth weight, and PRKAA1 with uterine artery diameter and metabolic homeostasis at high altitude. *Physiological genomics*. 2014;46(18):687-97.
- Amaru R, Amaru A, Miguez H, Gina T, Mamani J, Vera O, et al. Bolivian aymara natives with chronic mountain sickness have autonomous bfu-e growth. *Blood*. 2015;126:5206.

26. Song J, Han S, Amaru R, Quispe T, Kim D, Crawford JE, et al. Novel Form of Alternative Splicing of NFKB1. Its Role in Polycythemia and Adaptation to High Altitude in Andean Aymara. *Blood*. 2018;132(Supplement 1):2316-.
27. Crawford JE, Amaru R, Song J, Julian CG, Racimo F, Cheng JY, et al. Natural selection on genes related to cardiovascular health in high-altitude adapted Andeans. *The American Journal of Human Genetics*. 2017;101(5):752-67.
28. Shestakova A, Lorenzo F, Tashi T, Lanikova L, Wittwer CT, Prchal JT. Tibetan PHD2 D4E High Altitude Adapted Gene Can be Rapidly Detected By High Resolution Melting Assay. *American Society of Hematology* Washington, DC; 2014.
29. Figueroa Y, Chan AK, Ibrahim R, Tang Y, Burow ME, Alam J, Scandurro AB, and Beckman BS. NF-kappaB plays a key role in hypoxia-inducible factor-1-regulated erythropoietin gene expression *Exp Hematol*. 2002;30:1419-27.
30. Chen P-S, Chiu W-T, Hsu P-L, Lin S-C, Peng I-C, Wang C-Y, et al. Pathophysiological implications of hypoxia in human diseases. *Journal of biomedical science*. 2020;27:1-19.
31. Rees JS, Castellano S, Andrés AM. The Genomics of Human Local Adaptation. *Trends in Genetics*. 2020.
32. Key FM, Fu Q, Romagné F, Lachmann M, Andrés AM. Human adaptation and population differentiation in the light of ancient genomes. *Nature Communications*. 2016;7(1):1-11.

METABOLISMO DEL HIERRO EN LA ALTURA

Amaru Ricardo, Quispe Teddy, Luna Julieta, Mancilla Silvia, Patón Daniela.

Unidad de Biología Celular, Facultad de Medicina, UMSA, La Paz, Bolivia.

INTRODUCCIÓN

El contenido total del hierro en el organismo humano oscila alrededor de 4000 mg, la mayor parte está concentrada en la hemoglobina de los eritrocitos (2000 mg) cuya función principal es el transporte eficiente de oxígeno. El hierro requerido para la eritropoyesis es proporcionado por macrófagos reticuloendoteliales que reciclan 20-25 mg de hierro por día de los eritrocitos senescentes ⁽¹⁾. No existe un mecanismo excretor del hierro; sin embargo, diariamente 1 a 2 mg de hierro se pierde por descamación o sangrado, y se reemplazan por absorción dietética de hierro a nivel del duodeno ⁽²⁾. El metabolismo normal de hierro esta representado en la Figura 1.

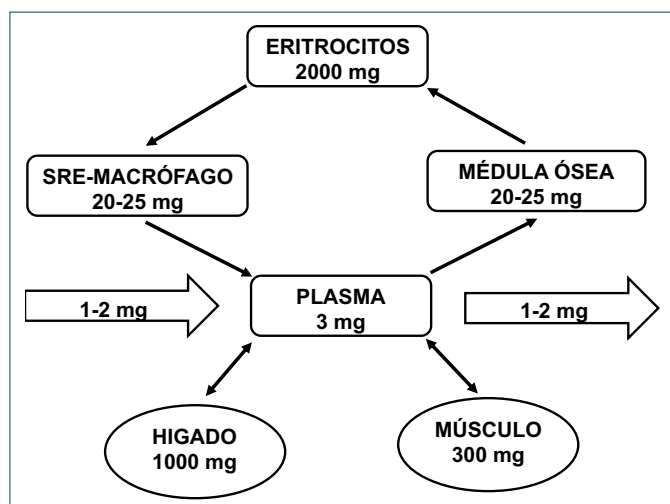


Figura 1. Metabolismo general del hierro. La mayor parte del hierro está en los eritrocitos (2000 mg) para el transporte del oxígeno, seguido por el hígado (1000 mg) como depósito de hierro y en la mioglobina del músculo (300 mg). En el plasma, circulan tan solo 3 mg unido a la transferrina para distribuir el hierro a todos los órganos (Hentze MW. Cell. 2004;117(3):285-97).

En el metabolismo del hierro, intervienen varias proteínas con funciones específicas tales como la Hefcidina, Ferroportina y Transferrina entre otros. Estas proteínas serán descritas considerando su rol en la altura.

DESARROLLO

Hefcidina en la regulación del metabolismo del hierro

La Hefcidina (polipéptido de 25 aa) secretada por el hígado, en respuesta al incremento del hierro sérico o señales de procesos inflamatorios, disminuye los niveles de hierro en plasma bloqueando la absorción de hierro en el duodeno y la liberación de hierro de los macrófagos ⁽³⁾. Luego la hepcidina se une a la ferroportina 1 (FPN) (una proteína transmembrana en enterocitos, hepatocitos y macrófagos) para internalizar y degradar a la ferroportina vía proteosomas, lo que conduce a una disminución de la absorción de hierro intestinal exógena y a la liberación endógena de hierro de los hepatocitos y los macrófagos fagocíticos eritrocíticos que regulan el metabolismo y el reciclaje de hierro ⁽⁴⁾ (Figura 2).

Durante la eritropoyesis el receptor Epo se expresa desde las colonias BFU-E hasta los eritroblastos; pero, solo las colonias CFU-E y los proeritroblastos responden a Epo. Se ha encontrado niveles elevados de mRNA de Eritroferrona en proeritroblastos y más abundantemente en eritroblastos (basófilos, policromáticos y ortocromáticos) ⁽⁵⁾. Los eritroblastos tienen receptores Epo no para regular la eritropoyesis, sino para inducir la expresión de Eritroferrona (Figura 3).

El nivel de hepcidina en la altura está controlado por la disponibilidad sistémica de hierro, estímulo

eritropoyético (proeritroblásto/eritroblasto) e hipoxia ⁽¹⁾. Además, la producción de hepcidina en la altura está disminuida, esto permite mejorar la exportación de hierro de los macrófagos y los enterocitos duodenales y, como consecuencia, mayor cantidad disponible de hierro para satisfacer la demanda para la eritropoyesis ⁽⁶⁾.

Eritroferrona en la regulación del metabolismo del hierro

La eritropoyesis, estimulada a través de la Epo, requiere un suministro mayor de hierro para sostener la eritropoyesis. Esto ocurre por la supresión de la hepcidina que permite mayor disponibilidad de hierro; esta supresión se realiza a través de una hormona eritroide llamada Eritroferrona (ERFE), que media la supresión de la hepcidina durante la eritropoyesis por estrés. La ERFE es producido por los proeritroblastos y los eritroblastos (basófilos, policromatófilos y ortocromáticos) en respuesta a la eritropoyetina. El gen de la ERFE pertenece al grupo de Fam132b donde, evidenciado en ratones, después de la estimulación con EPO la inducción de Fam132b se presenta solo en la médula ósea y el bazo ⁽⁵⁾.

En resumen, la ERFE es un potente supresor que actúa directamente sobre el hígado para reprimir la expresión del mRNA de la hepcidina; además, es un regulador específico durante la eritropoyesis por estrés y no juega un papel importante en la eritropoyesis basal ⁽⁵⁾ (Figura 4).

Transferrina en la regulación del metabolismo del hierro

La transferrina (TfR1) actúa como un receptor para incorporar hierro en las células, su expresión está regulada por el estado del hierro celular. Ante la disminución de hierro, la expresión de TfR1 aumenta; mientras que, ante el aumento de hierro la expresión de TfR1 disminuye. Los eritroblastos expresan niveles muy altos de TfR1 porque requieren grandes cantidades de hierro para la síntesis de hemoglobina, y la expresión máxima de TfR2- α (tipo membrana) ocurre en una etapa temprana de diferenciación de células eritroides, antes de ocurrir la expresión máxima de TfR1 ⁽⁷⁾.

La transferrina es un regulador clave de la homeostasis del hierro mediante la unión a su segundo receptor TFR2 que tiene una afinidad de unión más baja que la TFR1, y cuya expresión está restringida a los hepatocitos y eritroblastos. Cuando la concentración de hierro en plasma es alta, la transferrina diférrica se une a TFR2 induciendo la síntesis de hepcidina en los hepatocitos y una reducción de la capacidad de respuesta de la eritropoyetina en las células eritroides, lo contrario ocurre en la deficiencia de hierro (Figura5).

La doble función de la transferrina como transportador y regulador de hierro parece depender de la capacidad desigual de unión del hierro a los N y C terminales, y opera a través de la interacción diferencial de la transferrina monoférrica con los dos receptores ⁽⁸⁾. En las células eritroides, TfR2- α forma un complejo con el receptor de eritropoyetina (EpoR) ⁽⁷⁾.

De esta manera, la expresión de TfR1 está regulada tanto a nivel transcripcional como postranscripcional. En presencia de hipoxia o deficiencia de hierro, la expresión de factores inducibles por hipoxia (HIF-1 α y HIF-2 α) aumenta, y estas proteínas se unen al elemento de respuesta a la hipoxia (HRE) presente en el promotor del gen TfR1C, promoviendo así la transcripción TFRC. En el nivel postranscripcional, ante condiciones intracelulares deficientes de hierro, la proteína reguladora del hierro (IRP) se une a los elementos de respuesta al hierro (IRE), presente en 3'-UTR del mRNA de TFRC, para estabilizar el mRNA de TFRC y mejorar la expresión de la proteína TfR1. En condiciones de hierro elevado, las IRP no se unen a las IRE, lo que resulta en la desestabilización y degradación del mRNA de TFRC.

Altura y metabolismo de hierro

Los factores de transcripción como los Factores Inducibles por Hipoxia (HIF) son mediadores de la adaptación a grandes alturas, y estos mismos HIF intervienen en la regulación del metabolismo del hierro en la

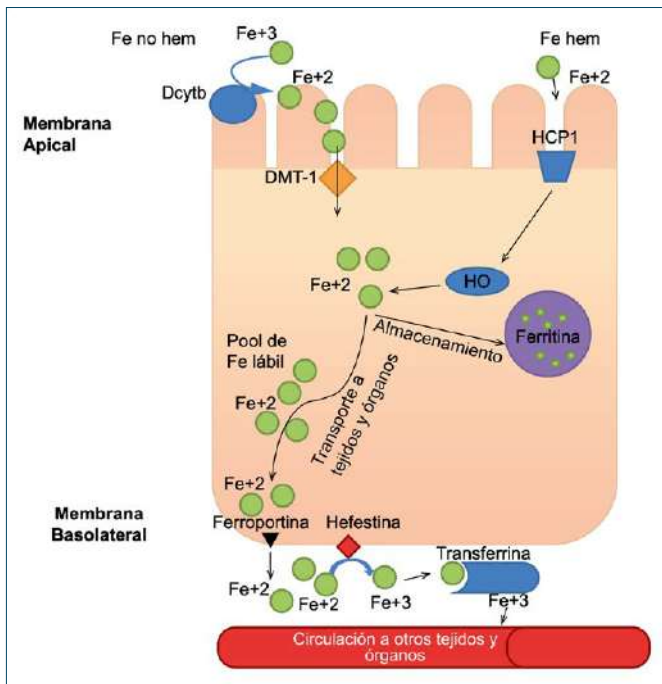


Figura 2. Regulación del metabolismo del hierro

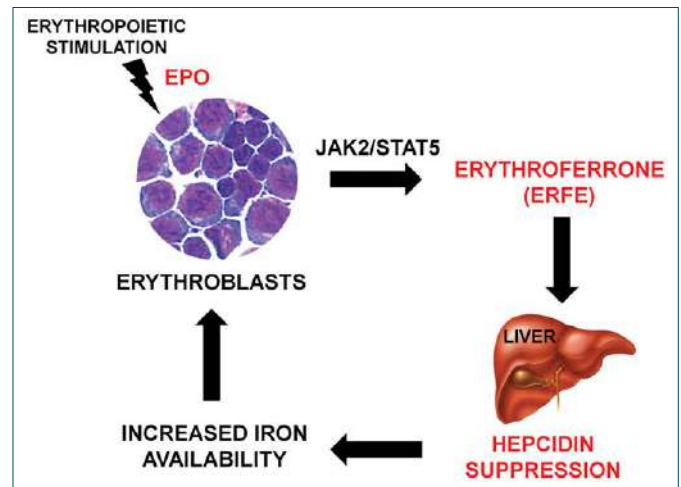


Figura 4. Rol de la Eritroferrona en la eritropoyesis.

La estimulación de la eritropoyesis vía Epo, aumenta la diferenciación de los proeritroblastos/eritroblastos en la médula ósea y éstos rápidamente producen la ERFE de una manera dependiente de la vía metabólica EPO-Stat5. La ERFE se secreta en la circulación y actúa directamente sobre el hígado para inhibir la síntesis de la hepcidina, y generar mayor disponibilidad de hierro para la eritropoyesis. (Cazzola M. Nat Genet. 2014 July ; 46(7): 678–684).

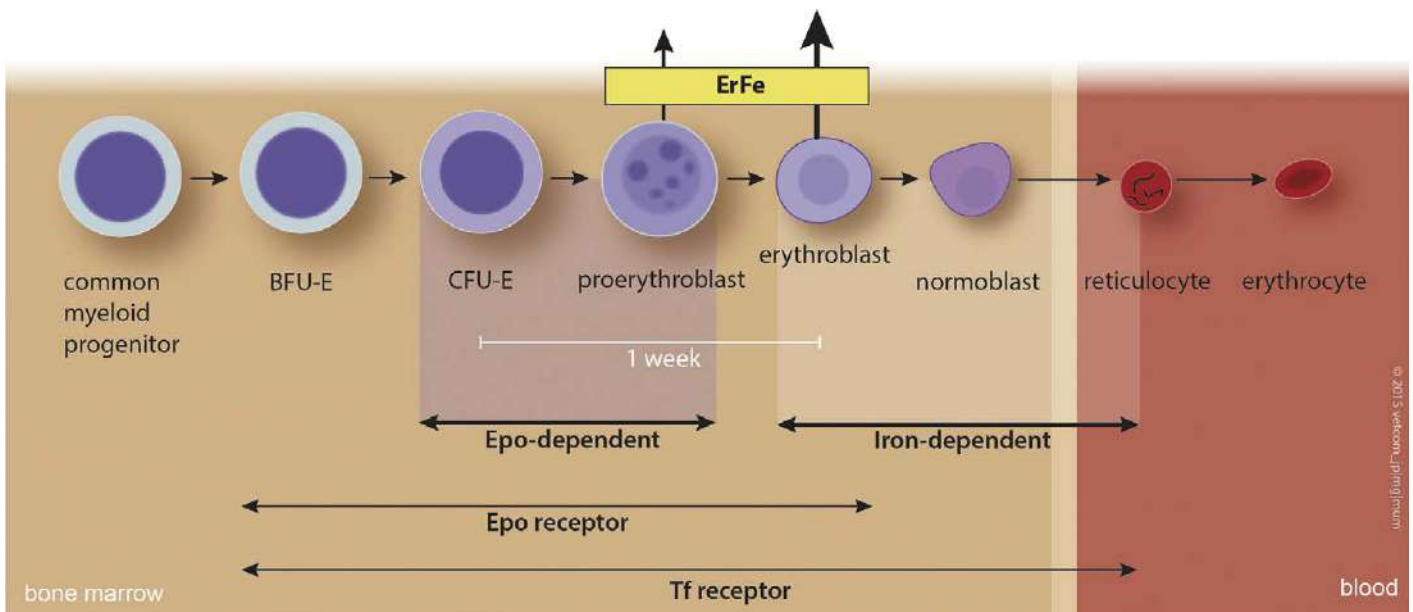


Figura 3. Eritropoyesis y expresión de Eritroferrona. El proeritroblasto es el primer progenitor eritroide reconocible morfológicamente que sufre mitosis para producir eritroblastos basófilos, policromáticos y ortocromáticos. Estos últimos expulsan sus núcleos para convertirse en reticulocitos. Se indica la fase en la que Epo estimula el proceso de diferenciación y la unión de Epo a los proeritroblastos. Los eritroblastos activan la expresión de ErFe, un supresor de la expresión de hepcidina en el hígado. Finalmente, el hierro unido a Tf se absorbe a través del receptor de transferrina-1 (CD71), que se expresa altamente durante la diferenciación eritroide, pero está ausente en los eritrocitos maduros. (Gassmann M. Journal of Applied Physiology. 2015;119(12):1432-40)

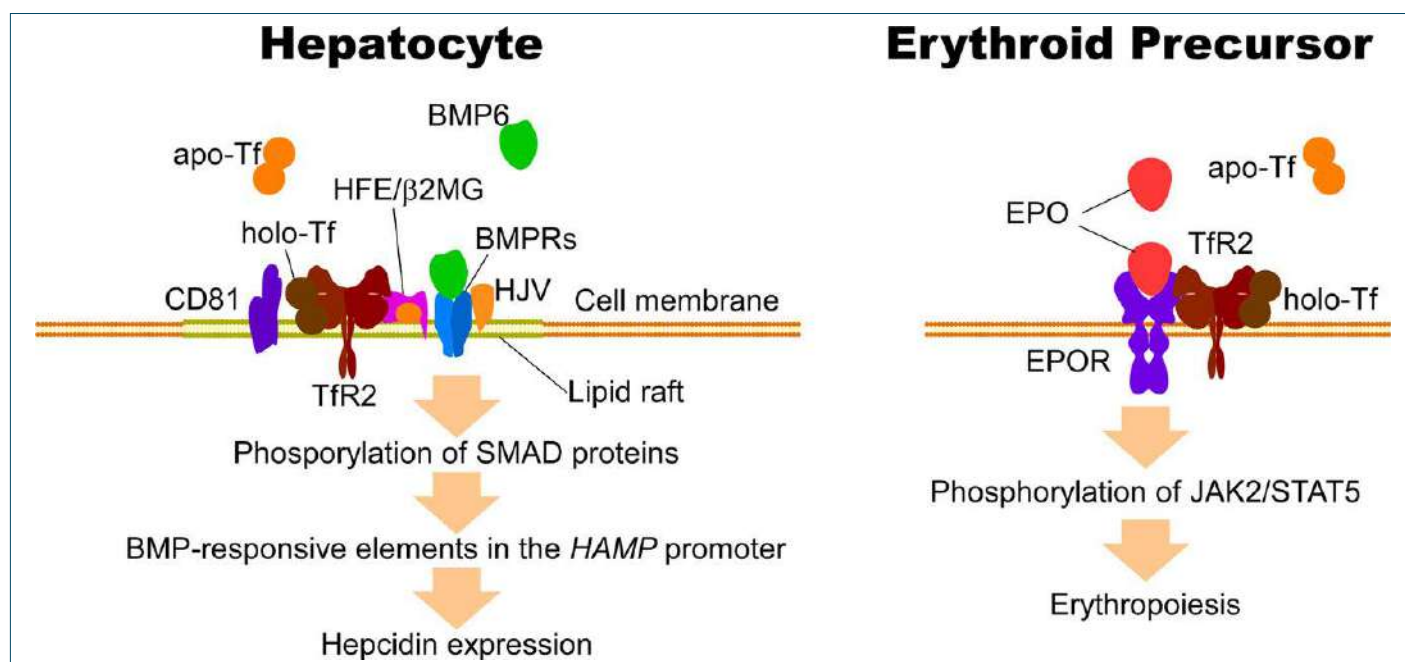


Figura 5. Funciones del receptor de transferrina 2 (Tfr2). *Tfr2-α* forma un complejo con el *EpoR* en los precursores eritroides para facilitar el tráfico en la eritropoyesis y regular el número de eritrocitos, particularmente en condiciones de restricción de hierro. (Kawabata H. *Free Radical Biology and Medicine* 133 (2019) 46–54).

altura ⁽⁹⁾. Los niveles sistémicos de oxígeno son monitoreados por prolil hidroxilasas (PHD2) en fibroblastos peritubulares presentes en la corteza renal, y el hierro es un cofactor crítico para estas dioxigenasas; por lo tanto, los niveles reducidos de oxígeno o hierro suprimen la actividad de PHD2.

Bajo normoxia o niveles de hierro normal, la prolil-hidroxilasa (PHD) hidroxila al HIF α , y los HIF hidroxilados interactúan con la proteína von Hippel-Lindau (vHL), resultando en la degradación del HIF- α vía proteasoma. El estímulo no llega al DNA celular, por lo tanto, no se observa modificaciones en la eritropoyesis y metabolismo de hierro.

Bajo hipoxia o niveles de hierro bajo, se observan dos procesos; primeramente, la PHD2 se inhibe y causa la estabilización de HIF-2 α que se heterodimeriza con su translocador HIF- β , luego estos se dirigen al núcleo para regular la transcripción de genes diana del HIF involucrados en la eritropoyesis uniéndose a secuencias específicas llamadas elementos de respuesta hipóxica (HRE) ⁽³⁾. Entonces, el HIF-1 α regula la expresión del receptor de transferrina 1 (Tfr1) y

la expresión de la hemooxigenasa 1 (HO-1) ^(10, 11), mientras que el HIF-2 α aumenta los niveles de hierro sérico aumentando la absorción de hierro a través de la transcripción del transportador de metal divalente 1 (DMT1), la reductasa férrica DcytB, el exportador de hierro (Ferroportina, FPN), y la inhibición de la producción de hepcidina en el hígado ^(12, 13) (Figura 6).

Posteriormente, el segundo proceso conlleva a ajustar los niveles de Epo a la disponibilidad de hierro. En condiciones deficientes de hierro, cuando se reduce la síntesis de hemoglobina, la proteína reguladora de hierro-1 (IRP1) se une al elemento de respuesta al hierro (IRE) en su región 5-UTR para inhibir la traducción de HIF-2 α , y de este modo asegurar que la síntesis de Epo se ajuste a la disponibilidad de hierro. Una vez que Epo llega a la médula ósea promueve la eritropoyesis, proceso que consume grandes cantidades de hierro. Para asegurar que se proporcione suficiente hierro, el eritroferone se sintetiza para suprimir la síntesis de hepcidina en el hígado, permitiendo una liberación de hierro de los órganos de almacenamiento (macrófagos)

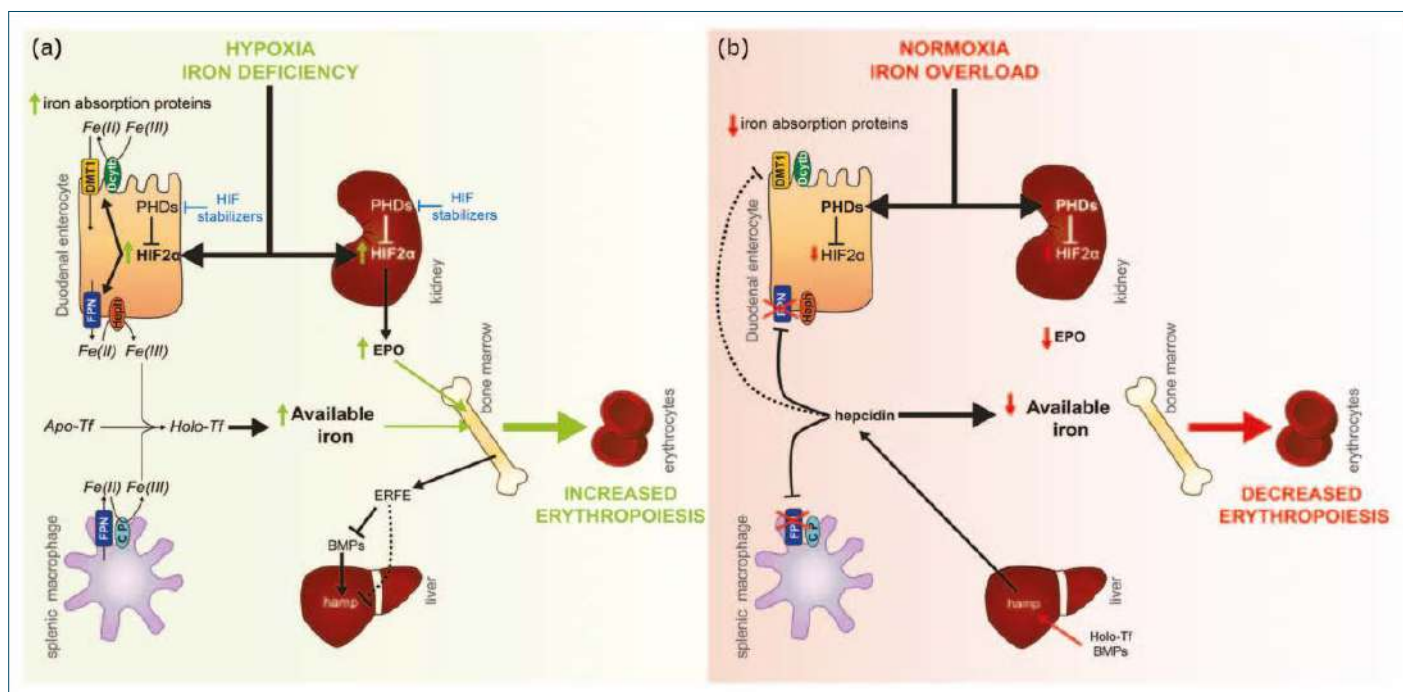


Figura 6. Metabolismo del hierro en condiciones de hipoxia. Regulación sistémica del metabolismo del hierro por concentración de hierro y condiciones de hipoxia. Apo-Tf, Apo-transferrina; BMP, proteínas morfogenéticas óseas; CP, cerruloplasmina; EPO, eritropoyetina; ERFE, eritroferrona; FPN, ferroportina; Heph, hephaestin; HIF, factor inducible por hipoxia; Holo-Tf, Holo-transferrina; Ocyt, citocromo duodenal b; OMT1, transportador de metal divalente 1; PHOs, enzimas del dominio de prolil hidroxilasa. (Robach P. Haematologica. 2020).

y una mayor absorción de hierro por los enterocitos. El hierro liberado de los macrófagos y los enterocitos duodenales es transportado por la transferrina (Tf) para satisfacer la eritropoyesis en la médula ósea ⁽⁶⁾ (Figura 7).

Resultados de estudios recientes reportan que la ERFE en humanos sanos aumenta rápidamente en respuesta a niveles de Epo exógeno, e inhibe a la hepcidina de forma independiente del hierro ⁽¹⁴⁾. Así mismo, la exposición a altitudes induce el aumento significativo de los valores de Hb y ferritina, como parte de los mecanismos de adaptación a la altura ⁽¹⁵⁾.

CONCLUSIONES

La homeostasis del hierro está regulada por los niveles y demanda de hierro corporal; sin embargo, en grandes altitudes, muchos factores relacionados con entornos hipóxicos crónicos pueden afectar la regulación del hierro ⁽¹⁶⁾. En la altura, la eritropoyesis está asociada al incremento de la movilización, utilización y almacenamiento del hierro; esta particularidad en la altura se

manifiesta con el aumento de niveles séricos de hierro, ferritina, TIBC y sTfR. De esta forma, aparentemente el incremento del metabolismo del hierro en la altura se relaciona con los niveles de eritropoyesis incrementada ⁽¹⁷⁾.

La hepcidina es la molécula clave que regula el metabolismo del hierro, los niveles de hepcidina sérica están disminuidos en habitantes de grandes alturas, lo cual coincide con un aumento compensatorio de la movilización de hierro para la producción de eritrocitos en un ambiente hipóxico ⁽¹⁷⁾. Sin embargo, un incremento en la concentración de hierro puede inhibir la hematopoyesis particularmente en las células progenitoras BFU-E, CFU-E y los proeritroblastos, dando lugar a un bloqueo de la eritropoyesis en estadios tempranos de diferenciación celular ⁽¹⁸⁾.

En habitantes de grandes alturas, la disminución de la hepcidina está estrechamente relacionada con la disminución de IL10 e IL22 ⁽¹⁷⁾. IL-10 es una citocina antiinflamatoria producida por los

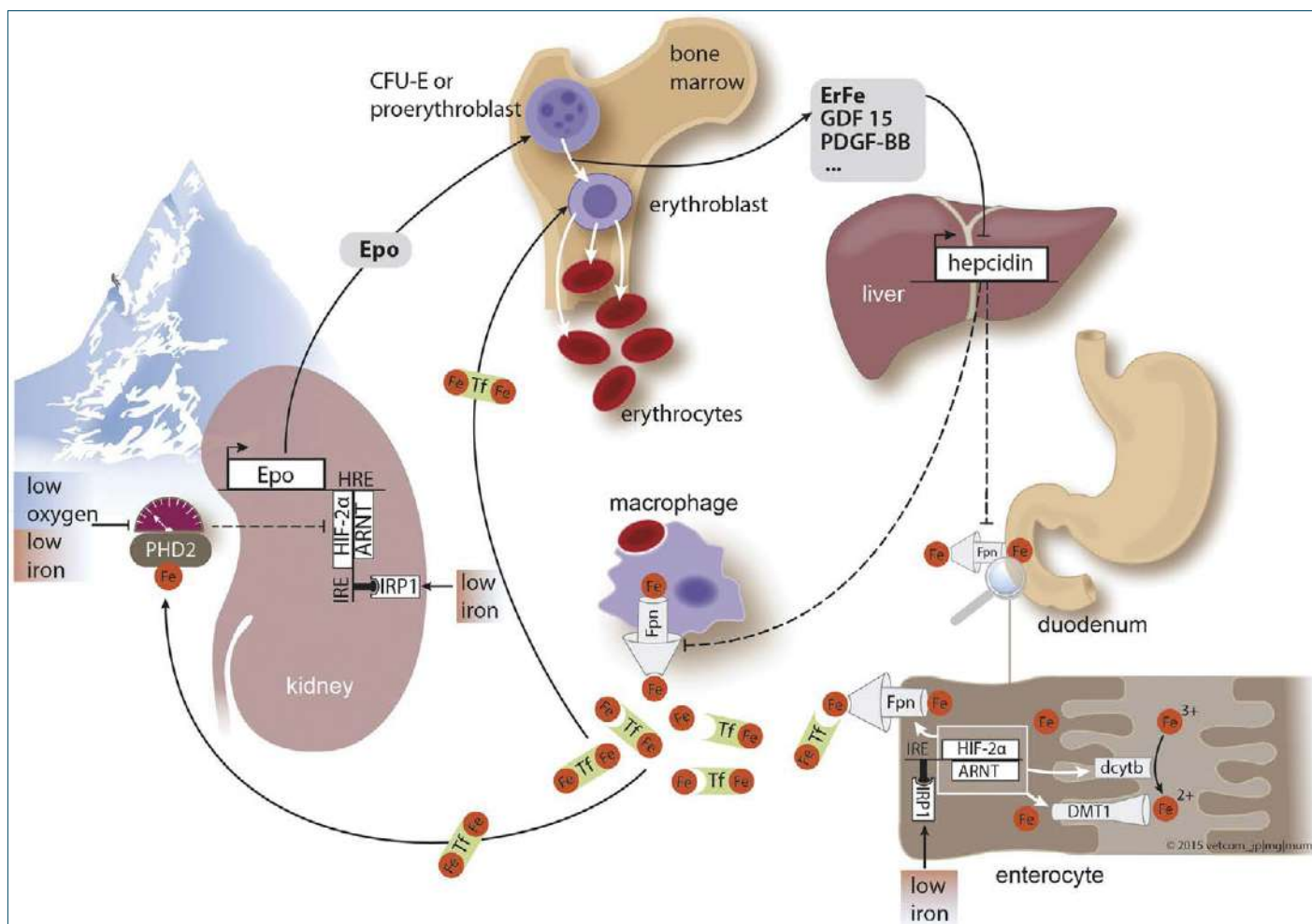


Figura 7. El papel del hierro en la homeostasis del oxígeno. Los niveles de oxígeno son monitoreados por prolil hidroxilasas (PHD), HIF-2α, Epo, ErFe y Hepcidina y Transferrina. (Gassmann M. *Journal of Applied Physiology*. 2015;119(12):1432-40)

monocitos, las células T colaboradoras tipo 2 (Th2) y las células T reguladoras (CD4/CD25) ⁽¹⁹⁾; contrariamente, la IL-22 es una citocina proinflamatoria producida por las células NK y las células T activadas, su papel implica respuestas inmunes innatas y la función de la Th17 ⁽²⁰⁾.

Por su parte, la eritroferrona (ERFE) es una hormona glucoproteica secretada por los proeritroblastos y eritroblastos como respuesta a la estimulación de la eritropoyetina exógena o endógena, suprime la síntesis hepática de la

hormona hepcidina. El impacto de la estimulación de la eritropoyesis en la secreción de ERFE en humanos es poco conocida ⁽²¹⁾.

De esta manera, los estudios concernientes al metabolismo del hierro en la altura son insuficientes y no concluyentes; por ello, la necesidad de realizar estudios detallados en habitantes a grandes alturas es de interés urgente, esto podría aportar al conocimiento de la regulación de la eritropoyesis en la altura así como en la etiología de las eritrocitosis patológicas de altura.

Referencias

1. Hentze MW, Muckenthaler MU, Galy B, Camaschella C. Two to tango: regulation of Mammalian iron metabolism. *Cell*. 2010;142(1):24-38.
2. Nairz M, Schroll A, Demetz E, Tancevski I, Theurl I, Weiss G. 'Ride on the ferrous wheel'—the cycle of iron in macrophages in health and disease. *Immunobiology*. 2015;220(2):280-94.
3. Renassia C, Peyssonnaud C. New insights into the links between hypoxia and iron homeostasis. *Current opinion in hematology*. 2019;26(3):125.
4. Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, Vaughn MB, Donovan A, Ward DM, et al. Heparin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *science*. 2004;306(5704):2090-3.
5. Kautz L, Jung G, Valore EV, Rivella S, Nemeth E, Ganz T. Identification of erythroferrone as an erythroid regulator of iron metabolism. *Nature genetics*. 2014;46(7):678-84.
6. Gassmann M, Muckenthaler MU. Adaptation of iron requirement to hypoxic conditions at high altitude. *Journal of Applied Physiology*. 2015;119(12):1432-40.
7. Kawabata H. Transferrin and transferrin receptors update. *Free Radical Biology and Medicine*. 2019;133:46-54.
8. Camaschella C, Nai A, Silvestri L. Iron metabolism and iron disorders revisited in the hepcidin era. *haematologica*. 2020;105(2):260-72.
9. Semenza GL. Hypoxia-inducible factors in physiology and medicine. *Cell*. 2012;148(3):399-408.
10. Lee PJ, Jiang B-H, Chin BY, Iyer NV, Alam J, Semenza GL, et al. Hypoxia-inducible factor-1 mediates transcriptional activation of the heme oxygenase-1 gene in response to hypoxia. *Journal of Biological Chemistry*. 1997;272(9):5375-81.
11. Tacchini L, Bianchi L, Bernelli-Zazzera A, Cairo G. Transferrin receptor induction by hypoxia HIF-1-mediated transcriptional activation and cell-specific post-transcriptional regulation. *Journal of Biological Chemistry*. 1999;274(34):24142-6.
12. Rankin EB, Biju MP, Liu Q, Unger TL, Rha J, Johnson RS, et al. Hypoxia-inducible factor-2 (HIF-2) regulates hepatic erythropoietin in vivo. *The Journal of clinical investigation*. 2007;117(4):1068-77.
13. Mastrogiannaki M, Matak P, Mathieu JR, Delga S, Mayeux P, Vaulont S, et al. Hepatic hypoxia-inducible factor-2 down-regulates hepcidin expression in mice through an erythropoietin-mediated increase in erythropoiesis. *Haematologica*. 2012;97(6):827-34.
14. Robach P, Gammella E, Recalcati S, Girelli D, Castagna A, Roustit M, et al. Induction of erythroferrone in healthy humans by micro-dose recombinant erythropoietin or high-altitude exposure. *Haematologica*. 2020.
15. Staub K, Haeusler M, Bender N, Morozova I, Eppenberger P, Panczak R, et al. Hemoglobin concentration of young men at residential altitudes between 200 and 2000 m mirrors Switzerland's topography. *Blood*. 2020;135(13):1066-9.
16. Hintze KJ, McClung JP. Heparin: a critical regulator of iron metabolism during hypoxia. *Advances in hematology*. 2011;2011.
17. Liu Y-S, Huang H, Zhou S-M, Tian H-j, Li P. Excessive iron availability caused by disorders of interleukin-10 and interleukin-22 contributes to high altitude polycythemia. *Frontiers in physiology*. 2018;9:548.
18. Suzuki N, Suwabe N, Ohneda O, Obara N, Imagawa S, Pan X, et al. Identification and characterization of 2 types of erythroid progenitors that express GATA-1 at distinct levels. *Blood*. 2003;102(10):3575-83.
19. Liu B, Chen J, Zhang L, Gao Y, Cui J, Zhang E, et al. IL-10 dysregulation in acute mountain sickness revealed by transcriptome analysis. *Frontiers in immunology*. 2017;8:628.
20. Wolk K, Warszawska K, Hoefflich C, Witte E, Schneider-Burrus S, Witte K, et al. Deficiency of IL-22 contributes to a chronic inflammatory disease: pathogenetic mechanisms in acne inversa. *The Journal of Immunology*. 2011;186(2):1228-39.
21. Ramirez Cuevas K, Schobinger C, Gottardo E, Voss SC, Kuuranne T, Tissot JD, et al. Erythroferrone as a sensitive biomarker to detect stimulation of erythropoiesis. *Drug testing and analysis*. 2020;12(2):261-7.

