

ACTUALIZACIÓN EN EL DIAGNÓSTICO DE MICROANGIOPATÍAS TROMBÓTICAS: UNA REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

CICLO DE METODOLOGÍA CIENTÍFICA II-2023

GRUPO 54

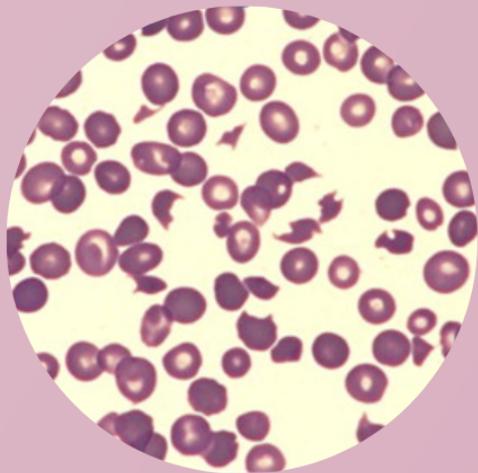
Integrantes:

Br. Aguerre, Florencia¹; Br. Degiuda, Romina¹; Br. Duarte, Camila¹; Br. Dufour, Gisela¹; Br. Fernández, Lucía¹; Br. Hernández, Lucrecia¹.

Orientadores:

Prof. Agda. Dra. Cecilia Canessa²; Prof. Adj. Dra. Paola Turcatti².

1. Ciclo de Metodología Científica II 2023-Facultad de Medicina-Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.
2. Departamento de Laboratorio Clínico, Hospital de Clínicas-Facultad de Medicina-Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.



ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN.....	3
SUMMARY.....	4
INTRODUCCIÓN.....	5
Marco teórico.....	5
Antecedentes.....	9
Justificación del problema.....	10
OBJETIVOS.....	11
Objetivo General.....	11
Objetivos Específicos.....	11
METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA.....	12
RESULTADOS.....	13
DISCUSIÓN.....	24
CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.....	26
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	27
ANEXOS.....	30

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1.....	5
FIGURA 2.....	30
FIGURA 3.....	30
FIGURA 4.....	31
TABLA 1.....	15
FIGURA 5.....	31
FIGURA 6A.....	32
FIGURA 6B.....	32
FIGURA 7.....	18
FIGURA 8.....	33
FIGURA 9.....	34
FIGURA 10.....	35
FIGURA 11.....	36

RESUMEN

Las microangiopatías trombóticas (MAT) son un conjunto de trastornos hematológicos que se caracterizan por anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia y daño orgánico de grado variable; dentro de ellas existe una amplia variedad de entidades, destacándose el púrpura trombocitopénico trombótico (PTT) y el síndrome urémico hemolítico (SUH) como las más importantes. Si bien estas enfermedades son infrecuentes, son potencialmente mortales para el paciente si no son diagnosticadas ni tratadas oportunamente. El objetivo de este trabajo es realizar una actualización de la información disponible sobre el diagnóstico de las microangiopatías trombóticas. Se realizó una revisión narrativa mediante la búsqueda bibliográfica en los portales de publicaciones científicas Pubmed, SciELO, Elsevier, ScienceDirect, Timbó Foco, según la terminología MeSH y DeCS y operadores booleanos, incluyéndose todo estudio acerca del diagnóstico de MAT, y excluyendo aquellos centrados en poblaciones específicas y tratamientos. Se obtuvieron un total de 254 artículos, de los cuales se seleccionaron 38 de interés.

El diagnóstico de PTT se basa en la detección de la actividad de ADAMTS13 < 10 IU/dL, para lo cual existen diferentes pruebas, que se analizan y comparan en este trabajo, las cuales utilizan como método ELISA o FRETs, y recientemente se diseñó un test rápido, completamente automatizado, basado en quimioluminiscencia.

Se concluye que ha habido un gran avance en lo que respecta al conocimiento de los mecanismos fisiopatológicos que subyacen la enfermedad, así como a la variabilidad y disponibilidad de pruebas diagnósticas que se han ido desarrollando, lo cual brinda herramientas para el manejo inicial del paciente, en vistas al diagnóstico precoz y tratamiento oportuno con disminución de la morbimortalidad asociada.

Palabras clave: Microangiopatías Trombóticas; Púrpura Trombocitopénica Trombótica; Síndrome Hemolítico-Urémico; Proteína ADAMTS13; Diagnóstico.

SUMMARY

Thrombotic microangiopathies (TMA) are a group of hematological disorders characterized by microangiopathic hemolytic anemia, thrombocytopenia, and organ damage of varying degrees; within them there is a wide variety of entities, highlighting thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) and hemolytic uremic syndrome (HUS) as the most important. Although these diseases are uncommon, they are potentially fatal for the patient if they are not diagnosed or treated promptly. The objective of this work is to update the available information on the diagnosis of thrombotic microangiopathies. A narrative review was carried out through a bibliographic search on the scientific publication portals Pubmed, SciELO, Elsevier, ScienceDirect, Timbó Foco, according to the MeSH and DeCS terminology and Boolean operators, including all studies about the diagnosis of TMA, and excluding those focused on specific populations and treatments. A total of 254 articles were obtained, of which 38 of interest were selected.

The diagnosis of TTP is based on the detection of ADAMTS13 activity < 10 IU/dL, for which there are different tests, that are analyzed and compared in this work, which use ELISA or FRETs as a method, and a recently designed rapid, fully automated test, based on chemiluminescence.

It is concluded that there has been great progress in terms of knowledge of the pathophysiological mechanisms that underlie the disease, as well as the variability and availability of diagnostic tests that have been developed, which provides tools for the initial management of the patient. in view of an early diagnosis and timely treatment with a reduction in associated morbidity and mortality.

Key words: Thrombotic Microangiopathies; Purpura, Thrombotic Thrombocytopenic; Hemolytic-Uremic Syndrome; ADAMTS13 Protein; Diagnosis.

INTRODUCCIÓN

Marco teórico

Las microangiopatías trombóticas (MAT) son un conjunto de trastornos hematológicos que se caracterizan por lesión del endotelio vascular (1), cuyo mecanismo se debe a la formación de microtrombos que obstruyen de manera parcial la luz de vasos de pequeño calibre, y por ende dificultan la circulación de los eritrocitos facilitando así su fragmentación mecánica (2).

En la generación de daño endotelial y formación de microtrombos consecuente a este, se plantean como posibles mecanismos implicados la activación del sistema del complemento y los neutrófilos mediante la liberación de especies reactivas del oxígeno (ROS), tales como el peróxido de hidrógeno y el ácido hipocloroso, y de proteasas como son las metaloproteinasas y elastasas (3).

Las MAT tienen una tríada clásica compuesta por anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia y daño orgánico de grado variable (1). Por un lado, la anemia hemolítica microangiopática se evidencia mediante la presencia de esquistocitos en frotis de sangre periférica (figura 1) y la elevación de lactato deshidrogenasa (LDH), de bilirrubina a expensas de la fracción indirecta, así como de reticulocitos (1).

Los esquistocitos corresponden a la fragmentación mecánica de los eritrocitos, que se presume ocurre al pasar la sangre por sectores de la microcirculación parcialmente ocluidos por los agregados plaquetarios, y la elevación de los niveles séricos de lactato deshidrogenasa es consecuente a la hemólisis y fuga de LDH de aquellas células provenientes del tejido isquémico o necrótico (4). Por otro lado la trombocitopenia, producto del consumo de plaquetas (5), puede ser de intensidad variable y se determina por un

recuento plaquetario $< 100.000/\text{mm}^3$ (1), aunque es frecuente que se presente con valores menores a $30.000/\text{mm}^3$ (6). Por último, la afectación de órganos, correspondiente a la disfunción isquémica de los mismos difiere según la entidad en cuestión, siendo los más comprometidos en términos generales cerebro, riñón, hígado y páncreas (7).

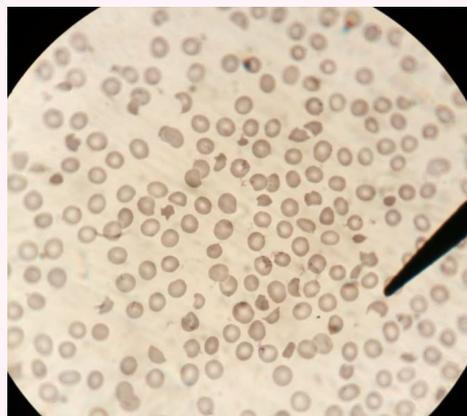


Fig. 1 Frotis de sangre periférica con esquistocitos (flecha) y escasas plaquetas de paciente portador de MAT. Laboratorio clínico, Hospital de Clínicas Dr. Manuel Quintela, Montevideo, Uruguay.

Dentro de las MAT se reconocen el Púrpura Trombocitopénico Trombótico (PTT) y el Síndrome Hemolítico Urémico (SHU) como las principales entidades. Estas se encuentran dentro de las llamadas MAT primarias, existiendo también MAT secundarias en contexto de otras patologías o de la administración de fármacos (figura 2) (1).

El PTT es una enfermedad rara dada por un déficit de ADAMTS13 (a disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13), una metaloproteasa que se encarga de escindir los multímeros ultragrandes del factor von Willebrand (FvW) (1), los cuales son producidos por las células endoteliales y plaquetas, uniéndose posteriormente al colágeno subendotelial que ante un daño vascular con exposición del subendotelio maximiza la adhesión de plaquetas. ADAMTS13 escinde los multímeros a medida que son secretados por las células que los producen, y esto regula la agregación plaquetaria, ya que las plaquetas no se adhieren a los fragmentos pequeños del FvW que circulan en el torrente sanguíneo luego de la escisión de los multímeros, y esto puede deberse a que el sitio de unión para las plaquetas, localizado en los dominios A1 del FvW, no está expuesto en los fragmentos escindidos (5). Por ende, ante la deficiencia de ADAMTS13 el FvW conserva sus multímeros, provocando la formación de microtrombos y posteriormente la obstrucción parcial de vasos sanguíneos con el daño orgánico característico (figura 3) (1).

El PTT existe de forma adquirida inmunomediada (PTTi) y congénita (PTTc). El PTTi tiene como base fisiopatológica la presencia de autoanticuerpos de tipo IgG, IgA o IgM dirigidos contra la proteína ADAMTS13 lo que ocasiona una disminución en la actividad plasmática de la misma, con valores por debajo del 5-10%. Su incidencia es de 4-6 casos nuevos/millón de habitantes/año en Estados Unidos (EE.UU), generalmente ocurre en la cuarta década de la vida, y es más frecuente en el sexo femenino (relación 3:2) y en personas de raza negra. El PTTc, que se presenta mayormente en niños y adolescentes, está dado por mutaciones del gen ADAMTS13 (1). Su prevalencia estimada es de 0,5 a 2 casos por millón (8).

El SHU se subdivide en SHU asociado a infección por *Escherichia coli* productora de toxina Shiga (STEC-HUS) y SHU atípico (SHUa). El STEC-HUS se caracteriza por ser una MAT localizada frecuentemente en los riñones, a pesar de provocar afectación en otros órganos. A nivel de estos, la lesión provocada por el SHU se caracteriza por congestión, infarto y trombosis de vasos sanguíneos glomerulares de pequeño calibre. La misma está dada por las toxinas Shiga 1 y 2 (STx1 y STx2) producidas por la bacteria, que actúan directamente sobre el endotelio vascular generando así una menor liberación de prostaciclina antiagregante (PGI2) que junto con el aumento local de tromboxano A2 y los multímeros del FvW desencadenan una

intensa agregación plaquetaria (2). A su vez, dichas toxinas presentan toxicidad directa sobre los podocitos y túbulo renales, lo cual explica que la afectación producida sea más localizada a nivel renal (9). Su incidencia anual varía según la edad de las personas, siendo de aproximadamente 2 casos/100.000 habitantes en adultos, mientras que en la población infantil es de 6 casos/100.000 niños. En cuanto al SHUa, su fisiopatología se debe a defectos en la regulación de la vía alternativa del complemento, ya sea por mutaciones genéticas o por anticuerpos anti factor H del complemento (anti-FHC). Existe entonces una intensa activación de la misma, que genera, como en las demás entidades, una lesión en las células endoteliales; que desencadena la activación plaquetaria y leucocitaria, y por ende la aparición de trombosis en la microcirculación. Ésta se considera una enfermedad bastante rara, ya que su incidencia es de 1-2 casos/millón de habitantes jóvenes en EE.UU, pero puede presentarse a cualquier edad, aunque con mayor frecuencia en niños y adultos jóvenes (1).

A pesar de tratarse de enfermedades raras, la gravedad y rápida progresión de las mismas obliga a establecer un diagnóstico diferencial de forma inmediata para iniciar con las medidas de soporte y/o tratamiento de manera temprana y oportuna. Debido a que la signosintomatología de los diferentes tipos de MAT no es específica, es difícil realizar un diagnóstico diferencial entre estas y por ende es necesario recurrir a diferentes técnicas diagnósticas. Igualmente, existen aspectos clínicos y paraclínicos que puedan orientar a una u otra etiología, tales como la trombocitopenia y la afectación renal (10).

En el PTT la trombocitopenia suele ser grave, menos de 20.000 plaquetas/mm³, pero la afectación renal es moderada; mientras que ocurre lo contrario en el SHUa donde la trombocitopenia es moderada (50-100.000/mm³) pero la afectación renal es grave (10). Asimismo, es raro que los pacientes se presenten con la púrpura clásica del PTT, que consiste en anemia hemolítica microangiopática con trombocitopenia, asociada a fiebre, disfunción renal y alteraciones neurológicas (caracterizadas por ser focales, fluctuantes y recurrentes) (1).

Cabe destacar que, el STEC-HUS es precedido por diarrea sanguinolenta que puede ser muy dolorosa, y que generalmente aparece entre 1 y 2 semanas antes del cuadro de MAT e insuficiencia renal (1); pero al igual que en el PTT, la sintomatología clásica no siempre es constante. Es por esto que, como ya se mencionó anteriormente, es necesaria la realización de ciertas pruebas diagnósticas para confirmar la etiología y así poder iniciar una terapia apropiada, considerando dentro de dichas pruebas la determinación de la actividad de ADAMTS13, para confirmar o descartar PTT, y la prueba de la toxina Shiga para detectar un STEC-HUS, o un SHUa (10).

En cuanto al ADAMTS13, no solo se puede determinar su actividad, sino que también se pueden detectar: el antígeno y la presencia de anticuerpos anti ADAMTS13 (1), pero “la distinción entre PTT y SHU se basa en la prueba de actividad plasmática de ADAMTS13” (7). Para hacer diagnóstico de PTT se considera una actividad plasmática de ADAMTS13 menor a 10 UI/dL; es decir que si la misma es superior a este valor se debe valorar la posibilidad de estar ante un caso de SHU o de MAT secundaria (7).

Para medir la actividad plasmática de ADAMTS13, se pueden utilizar métodos indirectos que consisten en la medición de la actividad residual del FvW posterior a la acción de ADAMTS13; o directos donde se mide la actividad de ADAMTS13 particularmente (1).

Los primeros métodos utilizados para determinar la actividad plasmática de esta metaloproteinasa se conocen como de primera generación, y consisten en degradar la molécula completa de FvW, mediante el ADAMTS13 presente en la muestra de plasma a estudiar (11).

En la actualidad se utilizan otros métodos, conocidos como de segunda generación, que implican el uso de fragmentos específicos del FvW para así aumentar la sensibilidad, especificidad y reproducibilidad de estas pruebas ya que eliminan la variación dada por la composición multimérica del factor. Entre estos se encuentran: el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), la transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRETs), y más recientemente el inmunoensayo de quimioluminiscencia (CLIA) (11).

Posterior a la medición de la actividad ADAMTS13, y habiendo determinado que la misma se encuentra disminuida, es prudente proceder a la detección de anticuerpos anti-ADAMTS13 para valorar si se trata de una PTT autoinmune (adquirida) o congénita. Los anticuerpos son principalmente de tipo Ig G y su detección se lleva a cabo mezclando plasma del paciente y plasma control (1:1), para luego medir la actividad ADAMTS13 por alguna de las técnicas anteriormente descritas y determinar la capacidad inhibitoria que presenta el anticuerpo, la cual es expresada en unidad Bethesda que traduce la concentración de anticuerpo que logra inhibir en un 50% la actividad ADAMTS13 (11).

A su vez existen estudios genéticos, que en base a la detección de mutaciones en el gen ADAMTS13, permiten confirmar el diagnóstico de PTT congénita (11).

Por otra parte, si la actividad ADAMTS13 no está disminuida en valores que se encuentren dentro del rango diagnóstico de PTT y se plantea SHU, para definir si este está asociado a infección por *Escherichia coli* o si es un SHU atípico existen determinadas pruebas diagnósticas. En el caso de STEC-HUS, para confirmar el diagnóstico etiológico se puede

proceder a la detección de toxinas similares a Shiga (stx1 y stx2) mediante diferentes técnicas, dentro de las cuales se encuentran el cultivo microbiológico, pruebas serológicas que identifican anticuerpos generados contra dichas toxinas, y pruebas rápidas que detectan las toxinas en muestras fecales. Del mismo modo, para confirmar SHU atípico existe la posibilidad de medir el valor sérico de proteínas del sistema de complemento asociadas a la etiopatogenia de la patología, así como determinar mutaciones en genes que codifican para dichas proteínas (1).

Vale destacar que la PTT se debe considerar como una urgencia hematológica, y ante la sospecha de esta patología se debe iniciar el tratamiento inmediatamente, considerando que la realización de recambio plasmático terapéutico (RPT), eventualmente en concomitancia con el uso de corticoides, rituximab y caplacizumab, ha disminuído significativamente la morbimortalidad de la PTT adquirida, así como el eculizumab (anticuerpo monoclonal anti-complemento C5) que disminuye la mortalidad en el SHU que es mediado por proteínas del complemento (7).

El efecto terapéutico del RPT radica en que permite eliminar del paciente los anticuerpos que este presenta contra ADAMTS13, y al mismo tiempo a través de una solución de reposición se realiza aporte de la metaloproteasa deficitaria. Si bien es escasa la evidencia de alta calidad que avala las recomendaciones acerca del manejo inicial de los pacientes con sospecha diagnóstica de PTT, está aceptado por la comunidad científica y plasmado en las diferentes guías clínicas que la plasmaféresis debe ser ofrecida a todos los pacientes en los que se sospeche PTT e iniciarse lo antes posible, ya que este gesto puede disminuir drásticamente la mortalidad (1).

Antecedentes

La primera descripción de MAT fue realizada en el año 1925 por el patólogo Eli Moschcowitz, quien concluyó que era «un potente veneno con propiedades aglutinantes y hemolíticas» (12). En 1982 Moake y colaboradores reconocieron anomalías en la conformación de los multímeros del FvW en el plasma de pacientes portadores de PTT, y 6 años después, en 1998 Furlan y colaboradores, así como Tsai y Lian describieron deficiencias de ADAMTS13 como causa patogénica de PTT (13).

En cuanto al SHU, fue descrito por primera vez en 1955 por Conrad Gasser como una patología caracterizada por la presencia de anemia hemolítica microangiopática, insuficiencia renal, y trombocitopenia. El SHU fue asociado a la contaminación de alimentos en 1982,

posteriormente Mohamed A. Karmali identifica a la *Escherichia coli*, productora de toxina Shiga, (STEC) como el agente causal de SHU (14).

Al día de hoy, han sido realizados múltiples trabajos e investigaciones acerca de esta temática, y se han elaborado diferentes guías para la práctica clínica, entre las cuales se encuentran la “Guía diagnóstica y terapéutica de las microangiopatías trombóticas del Grupo Español de Aféresis” y la “Guía de la International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH) para el diagnóstico y tratamiento de la púrpura trombocitopénica trombótica”, que son utilizadas a nivel mundial y serán tenidas en cuenta en este trabajo, a la hora de recopilar la información disponible para generar la actualización del tema.

En este trabajo se pretende resumir la evidencia que hay hasta el día de la fecha respecto a las MAT enfatizando en los posibles sub diagnósticos, particularmente desde el punto de vista de las técnicas diagnósticas, ya que, como se mencionó el diagnóstico precoz, es de gran importancia para disminuir la morbimortalidad que poseen estas patologías. Además se espera que sirva de apoyo para los profesionales involucrados en la atención de estos pacientes, y así puedan realizar una aproximación diagnóstica y terapéutica acorde a la patología de manera precoz y eficaz.

Justificación del problema

La importancia de esta revisión bibliográfica radica en que si bien el PTT, como entidad dentro de las MAT, es una patología muy poco frecuente se ha comprobado que tiene un gran impacto en la morbimortalidad y calidad de vida de los pacientes que la padecen. Si bien es un área de la medicina que en los últimos tiempos ha tenido importantes avances respecto a los fundamentos fisiopatológicos que se encuentran en la base de la patología, falta mucho aún por progresar en cuanto a las medidas diagnósticas y terapéuticas necesarias para afrontar la asistencia clínica de los pacientes afectados, por lo que puede ser de gran utilidad realizar una actualización que recopile la información más importante disponible acerca del tema.

OBJETIVOS

Objetivo General

- Recopilar información sobre el diagnóstico de las microangiopatías trombóticas.

Objetivos Específicos

- Describir las características de las pruebas diagnósticas.
- Valorar el rendimiento diagnóstico de las diferentes pruebas disponibles para microangiopatías trombóticas.
- Evaluar el impacto en morbilidad asociada al diagnóstico precoz en comparación al diagnóstico tardío.
- Indagar sobre el costo-beneficio de los diferentes estudios diagnósticos disponibles.
- Justificar la importancia de disponer precozmente de pruebas confirmatorias para el diagnóstico y manejo inicial del paciente con sospecha de microangiopatía trombótica.
- Evaluar la relevancia de la dosificación de ADAMTS13 en el seguimiento post remisión del paciente con microangiopatías trombóticas.

METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA

Se realizó una revisión bibliográfica de la literatura académica disponible respecto a MAT en los principales portales de publicaciones científicas: PubMed, Scielo, Elsevier, Cochrane, revistas de sociedades médicas, Timbó, Colibrí, Science Direct. Se considerarán las variables morbimortalidad, tiempo de internación, costos y secuelas, según el método diagnóstico utilizado y el momento de realización del mismo.

Para la selección de los artículos se incluyó todo estudio orientado a las técnicas diagnósticas de MAT, ya sean metanálisis, revisiones sistemáticas y narrativas, ensayos clínicos y controlados aleatorizados, libros y documentos. Se consideraron solamente los estudios accesibles a la totalidad del texto. Se establecieron como criterios de exclusión aquellos estudios enfocados en poblaciones especiales (niños, embarazadas, COVID+, cáncer, trasplantados, otras comorbilidades, etc.) y tratamientos para cada una de las etiologías, ya que exceden los objetivos planteados.

Las palabras clave utilizadas fueron escogidas según la terminología MeSH y DeCS: «Microangiopatías Trombóticas», «Púrpura Trombocitopénica Trombótica», «Síndrome Hemolítico-Urémico», «Proteína ADAMTS13», «Diagnóstico» en español, y «Thrombotic Microangiopathies», «Purpura, Thrombotic Thrombocytopenic», «Hemolytic-Uremic Syndrome», «ADAMTS13 Protein», «Diagnosis» en inglés. Estos términos se conectaron con los operadores Booleanos “AND”.

RESULTADOS

De un total de 254 referencias encontradas, se recuperaron un total de 38 documentos de interés: 4 guías, 23 artículos, 6 revisiones, 1 documento de consenso, 1 caso clínico y 2 libros (figura 4).

Las microangiopatías trombóticas son un grupo de desórdenes que generan la oclusión de la microcirculación mediante agregación plaquetaria y formación de trombos, en conjunto con la rotura mecánica de los eritrocitos (15).

El PTT congénito se caracteriza por la deficiencia congénita de ADAMTS13, conocida como el síndrome de Upshaw-Schulman, en el cual se describen diferentes polimorfismos y mutaciones en el gen que codifica para ADAMTS13, los cuales determinan una disminución grave de su actividad. El comportamiento del PTT congénito suele ser variable, pudiendo manifestarse en la infancia o en la adultez, como sucede en mujeres durante el primer embarazo, con tendencia a recaídas, pero ante la presencia de mayor actividad endógena de ADAMTS13 puede que nunca experimenten un episodio de PTT. Mientras que en el PTT autoinmune la deficiencia de ADAMTS13 es adquirida, por la presencia de anticuerpos contra esta, los cuales pueden ocasionar una inhibición de su función o aumentar su eliminación. Se han descrito varios factores desencadenantes del proceso autoinmune, como infecciones (virus de Epstein-Barr, citomegalovirus, VIH, entre otras), fármacos, la existencia de otras enfermedades autoinmunes y el embarazo, aunque no siempre hay una alteración subyacente (13).

La diferencia entre ambos tipos de PTT se basa en la presencia de anticuerpos anti-ADAMTS13, mediante pruebas de inhibidores y/o de unión, cuyo hallazgo confirma la causa inmunológica. En el PTT inmune también puede encontrarse presente el antígeno ADAMTS13, lo cual implica que la enzima se encuentra unida a complejos inmunes, mientras que en el congénito se puede secuenciar el gen en busca de mutaciones (13).

El cuanto al SHU, el asociado a toxina shiga es la forma más frecuente, se presenta habitualmente en niños menores de 5 años, y el cuadro es precedido por diarrea hemorrágica (sangrado profuso acompañando las deposiciones) que ocurre por la infección intestinal de cepas de *E. coli* productoras de toxina Shiga, tras la ingesta de alimentos contaminados (1) (16).

Además de la presentación de síntomas digestivos, en el 10-25% de los casos se pueden evidenciar alteraciones neurológicas como alteración de la conciencia, irritabilidad, o crisis epilépticas, entre otras complicaciones severas. Estos síntomas son más frecuentes en adultos (16).

El SHU atípico es un tipo muy poco común de MAT, que es resultado de una alteración en la vía alternativa del complemento que resulta en la activación mantenida del complejo C5b-9 o complejo de ataque a membrana (CAM), causando daño endotelial. Dicha alteración puede deberse tanto a mutaciones en genes que regulan esta vía, por ejemplo C3, factor II, trombomodulina, como a la presencia de anticuerpos contra proteínas del complemento (17).

Cabe mencionar que el PTT, tanto congénito como adquirido, es considerado una emergencia médica dado que la mortalidad llega a un 90% en las primeras 24 horas si no se inicia el tratamiento, el cual de implementarse la disminuye al 10-20% (11). Además, si se puede descartar el PTT precozmente, se pueden iniciar terapias que sean adecuadas a la MAT que tiene el paciente, como el uso de eculizumab en el SHUa, lo cual mejora los resultados ya que disminuye la necesidad de diálisis (16) (18).

Tal es así que en el artículo “deleterious neurological impact of diagnostic delay in immune-mediated thrombotic thrombocytopenic purpura”, publicado en noviembre de 2021, donde se realizó un estudio retrospectivo que evaluó las repercusiones neurológicas generadas por el diagnóstico tardío de PTT inmune obtuvieron como resultados que el 67% de los pacientes con diagnóstico tardío desarrolló por lo menos un evento neurológico en comparación con un 30% de los pacientes con diagnóstico precoz; ocurriendo la mayoría de dichos eventos dentro de la primera semana luego de la evaluación hospitalaria (19).

Dada la elevada mortalidad ya mencionada, es necesario iniciar el RPT inmediatamente incluso si no se cuenta con la confirmación del diagnóstico mediante la actividad de ADAMTS13, teniendo en cuenta que el resultado de las pruebas diagnósticas varía según la disponibilidad local de las mismas, pudiendo extenderse incluso a días o semanas. Es por esto que se han creado diferentes sistemas de puntuación clínica que permiten realizar el diagnóstico diferencial de las MAT al predecir la deficiencia de ADAMTS13, para comenzar el tratamiento precozmente (tabla 1). El primer score diseñado fue la puntuación de Bentley, seguido por el score French y el Plasmic posteriormente (20), todos con el objetivo de valorar las características clínicas y los resultados de laboratorio que fueran útiles para descartar o aumentar la probabilidad del diagnóstico de PTT (21).

Respecto a estos, el estudio descriptivo “Utility of different scoring systems for the diagnosis of thrombotic microangiopathies”, investigó la utilidad de los scores de Bentley y PLASMIC, en pacientes con posible diagnóstico de PTT, por reunir determinados criterios tales como anemia hemolítica con prueba de Coombs negativo y trombocitopenia, concluyendo que

el uso precoz, y en conjunto, de ambos scores, aumenta el predictivo para comenzar con el tratamiento hasta obtener el resultado diagnóstico (22).

Además, en el estudio “Comparison of Clinical Scoring Systems in the Management of Patients with Microangiopathic Hemolytic Anemia and Thrombocytopenia”, donde fueron comparadas las tres puntuaciones, se demostró que presentan un potencial similar para predecir el PTT, y que existe una correlación moderada entre estos y los niveles de ADAMTS13, siendo entonces aplicables en la práctica diaria (20).

Tabla 1. Interpretación de sistemas de puntuación clínica para la deficiencia de ADAMTS13.			
	Score PLASMIC	Score French	Score Bentley
Recuento plaquetario	<30x10 ⁹ /L: 1 punto	≤30x10 ⁹ /L: 1 punto	>35x10 ⁹ /L: -30 puntos
Nivel de creatinina	<2 mg/dL: 1 punto	≤2.26 mg/dL: 1 punto	<2 mg/dL: -11.5 puntos
Parámetros de hemólisis	Recuento de reticulocitos >2,5%: 1 punto Haptoglobina indetectable: 1 punto Bilirrubina indirecta >2 mg/dL: 1 punto		Recuento de reticulocitos >3%: +21 puntos Bilirrubina indirecta >1,5 mg/dL: +20,5 puntos
Condiciones asociadas	Sin cáncer activo: 1 punto Sin antecedentes de órganos sólidos o de trasplante de células madre hematopoyéticas: 1 punto		
VCM	<90 fl: 1 punto		
INR	<1,5: 1 punto		
ANA		Positivo: 1 punto	
D-dímeros			>4 µg/mL: -10 puntos
Categoría de riesgo de interpretación, puntuación total			
Bajo	0-4	0	<20
Intermedio	5	1	20-30
Alto	6-7	2-3	>30
VCM: volumen corpuscular medio; INR: índice internacional normalizado; ANA: anticuerpo antinuclear			
<i>Modificado de Baysal M. et al. Comparison of Clinical Scoring Systems in the Management of Patients with Microangiopathic Hemolytic Anemia and Thrombocytopenia. Turk J Hematol 2021;38:64-68.</i>			

En el estudio retrospectivo “Impact of a multidisciplinary team for the management of thrombotic microangiopathy” se analiza la importancia del accionar de un equipo multidisciplinario (MDT) respecto a los resultados clínicos y la duración de la internación. La incidencia de MAT observada en este estudio aumentó más de 4 veces luego de la implementación de MDT. Este aumento puede explicarse por los criterios utilizados como prueba de screening, los cuales han demostrado ser sensibles, incluyendo en el estudio como casos sospechosos de MAT a los pacientes con anemia hemolítica y trombocitopenia. Además, la etiología más prevalente estuvo relacionada con un cuadro infeccioso, siendo esta una enfermedad frecuente en un centro de tercer nivel. En base a esto, concluyeron que la implementación del MDT permitió realizar un tratamiento precoz, mejores resultados clínicos y disminuir la estadía hospitalaria (23).

En la práctica, dado la similitud en la presentación clínica y características de laboratorio de las MAT, hace que sea complejo diferenciarlas, por lo que se realiza la prueba de ADAMTS13 que permite demostrar una actividad ADAMTS13 $<0,1$ UI/mL (o <10 UI/dL, o <10 % de lo normal), siendo esencial para confirmar el diagnóstico de PTT y diferenciarlo de otras MAT. Es por esto que los distintos autores concuerdan que en los pacientes con sospecha de PTT, antes del inicio del RPT, se deben extraer muestras sanguíneas para el diagnóstico (figura 5) (24).

En las últimas décadas, ha habido un gran avance en cuanto a los test utilizados para medir la actividad de ADAMTS13. Las técnicas de primera generación requieren el despliegue del FvW para que el sitio de acción de ADAMTS13 quede más accesible, ya que estas utilizan la molécula completa (25). Si en el plasma hay ADAMTS13, el FvW es degradado y los productos de digestión resultantes de esta acción son analizados mediante diferentes métodos, tales como electroforesis (geles de SDS-agarosa o SDS-poliacrilamida) para valorar la separación por tamaño; o midiendo la actividad residual mediante su unión al colágeno o a través de la agregación plaquetaria inducida por ristocetina. Como desventajas de estas técnicas se puede destacar que se requiere mucho tiempo para su realización (2-3 días), así como también que son métodos difíciles de llevar a cabo; y que además presentan bastante variabilidad intra e interensayo (11).

Las alternativas modernas son las llamadas de segunda generación, las cuales tienen como ventaja el no requerimiento de tratamiento previo de la muestra obtenida debido a que utilizan un fragmento de VWF, y pueden marcarse con algún tipo de etiqueta o cromógeno (25). Una de estas técnicas es el “enzimoimmunoanálisis comercial (ELISA) con detección por

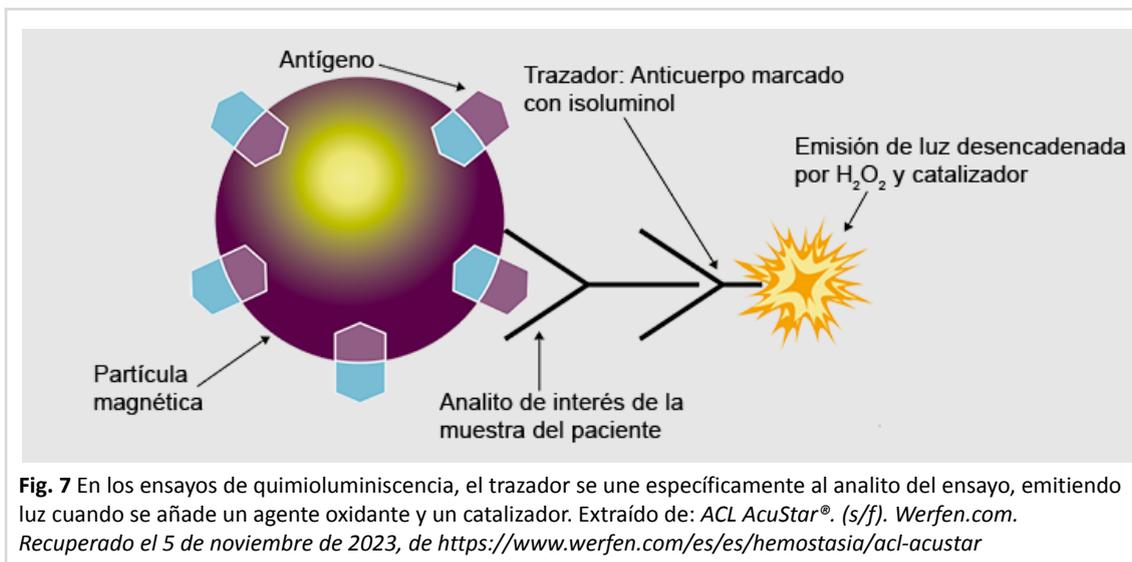
sustratos cromogénicos”, que utiliza un péptido recombinante que contiene el sitio de acción de ADAMTS13, al que se le añade el plasma; y si esta enzima está presente el péptido es clivado. Esto se detecta mediante el agregado de un anticuerpo que será revelado al añadir un sustrato cromogénico (TMB), y según la actividad de ADAMTS13 la intensidad de color resultante (son directamente proporcionales) (figura 6A) (11).

Según la información brindada por ECAT (External quality Control of diagnostic Assays and Tests) el test más ampliamente usado es el ELISA “Technozym ADAMTS13 Activity” fabricado por Technoclone el cual brinda los resultados en 3-4 horas aproximadamente (24).

Otro método es la Fluorescence Resonance Energy Transfer Assay (FRET), donde se modifica químicamente el fragmento del factor, agregándole un fluoróforo unido a una molécula que lo inhibe. Si en la muestra hay ADAMTS13, el péptido también será clivado, de manera que se libera el inhibidor y se emite la fluorescencia, que es directamente proporcional a la actividad enzimática (11). Un ensayo que utiliza esta técnica y brinda un resultado rápido y cuantitativo es Technofluor ADAMTS13 Activity, el cual es totalmente automatizado, pero requiere una plataforma analítica específica, lo cual limita su disponibilidad. Otras opciones son Actifluor™ ADAMTS13 Activity assay de BioMedica Diagnostics y ATS-13® Activity Assay de Immuncor, que a diferencia de Technofluor ADAMTS13 Activity no requieren plataformas específicas y son realizados en forma manual (figura 6B) (26).

Más recientemente, con la intención de automatizar el proceso diagnóstico y disminuir el tiempo de respuesta del test utilizado, se ha desarrollado una prueba rápida y automatizada de quimioluminiscencia, que determina la actividad de ADAMTS13, conocida como HemosIL AcuStar (figura 7). Se trata de un inmunoensayo, realizado en 2 pasos, que emplea partículas magnéticas y un sistema de detección de quimioluminiscencia. Como primer paso, se mezcla la muestra plasmática del paciente con partículas magnéticas, las cuales se encuentran recubiertas, a través de un anticuerpo monoclonal específico, por un sustrato recombinante del FvW (GST-VWF73), que presenta en su interior el sitio de escisión de ADAMTS13, lo cual permite que el ADAMTS13 que se encuentra en la muestra de plasma escinda dicho sustrato del FvW proporcionalmente a su actividad. Luego, se procede al lavado y separación magnética, y se adiciona un anticuerpo monoclonal anti-FvW que está marcado con isoluminol, el cual se une con el FvW escindido en las partículas magnéticas, para luego incubar esta mezcla en el segundo paso. Tras realizar un segundo lavado y separación magnética, se procede a la adición de reactivos desencadenantes de la reacción quimioluminiscente, la cual es medida por el sistema óptico AcuStar como URL, es decir unidades relativas de luz, considerando dicha

medida directamente proporcional a la actividad de la enzima ADAMTS13 presente en la muestra plasmática (figura 8) (27).



Respecto a las ventajas y desventajas que presentan las pruebas diagnósticas previamente descritas, tanto HemosIL como los ensayos FRET, pueden brindar los primeros resultados en 30 minutos aproximadamente, lo cual reduce el riesgo de emplear el tratamiento preventivo en casos innecesarios, a diferencia del ELISA, cuyos resultados tardan aproximadamente 4 horas. Sin embargo, el ELISA tiene una mayor adaptación a equipos genéricos de uso común, mientras que los ensayos FRET y los de quimioluminiscencia requieren plataformas analíticas específicas. Así mismo, en el caso del Hemosil, al ser automatizado no necesita procesos manuales ni laboriosos, a diferencia del ELISA que es más demandante (24) por lo cual está sujeto a la habilidad técnica, y además por motivos de rentabilidad, su realización en general es por lote y no para pacientes individuales (28).

El estudio “Multicentric evaluation of the new HemosIL Acustar® chemiluminescence ADAMTS13 activity assay”, publicado en el 2020, comparó el rendimiento del HemosIL Acustar® en la medición de la actividad de ADAMTS13 con tres ensayos comerciales, uno de ellos basado en la técnica FRET y los demás en ELISA (TECHNOZYM® ADAMTS13 Activity y DG-EIA ADAMTS-13 Activity); para ello se utilizaron 241 muestras, siendo dicha cantidad mayor a la utilizada por los estudios realizados hasta la fecha. En dicho ensayo, se concluyó que HemosIL Acustar brindó resultados altamente compatibles con los demás test evaluados, tanto para valores de actividad de ADAMTS13 menores a 10% como para valores inferiores al 5%, detectando que el mayor nivel de concordancia se obtuvo con TECHNOZYM y el menor con la

técnica FRET. Pero por otra parte, se detectó que HemosIL tendió a subestimar los valores de ADAMTS13, principalmente en el rango de valores altos del estudio ($> 40\%$), respecto a las demás pruebas, y se observó además, que para valores de ADAMTS13 $< 10\%$ tuvo una especificidad de 95% y una sensibilidad del 100%, lo cual implica que detectó a todos los pacientes con PTT, pero a su vez tuvo falsos positivos, y así pacientes que no presentaban PTT fueron diagnosticados erróneamente, lo cual, tal como plantearon los autores, impactaría a la hora de tomar decisiones terapéuticas (29).

Así mismo, el estudio "A multicenter laboratory assessment of a new automated chemiluminescent assay for ADAMTS13 activity" llevado a cabo por Emmanuel J. Favalaro entre otros, en colaboración con ocho centros de distintas ciudades de Australia, también tuvo como objetivo comparar el HemosIL AcuStar ADAMTS13 con el ELISA de actividad ADAMTS13 de Technozym para determinar su utilidad en el diagnóstico de PTT. El mismo se realizó durante un año e incluyó 733 muestras (348 prospectivas y 385 retrospectivas), cuyos resultados también demostraron una buena correlación entre ambos ensayos, y aclararon que hubo un sesgo negativo con el HemosIL, ya que identificaron valores bajos de ADAMTS13 en algunas muestras que dieron normales mediante el ELISA. De todas maneras, en algunos casos, al repetir el HemosIL los resultados fueron normales, concluyendo que esto se debía a problemas de muestreo, dado por burbujas de aire, partículas, coágulos, que impidieron que la muestra fuese absorbida completamente, por ende, demostraron que el HemosIL proporcionó resultados rápidos y muy similares al ELISA. También encontraron que los pacientes que fueron positivos con el HemosIL (ADAMTS13 $< 10\%$) pero negativos con el ELISA (ADAMTS13 $> 10\%$) realmente tenían PTT (en remisión, seguimiento, o control), de manera que el ensayo Technozym pudo haber dejado pasar por alto estos pacientes, y por ende el HemosIL fue preciso para identificar PTT (28).

Tal como los anteriores, existen múltiples estudios que evalúan el impacto del HemosIL en el diagnóstico del PTT, y todos concluyen que dicha prueba tiene buena correlación con el ELISA Technozym, y que por ende sería de gran utilidad en el mismo, así como en el tratamiento. En el artículo, "Evaluation of a New, Rapid, Fully Automated Assay for the Measurement of ADAMTS13 Activity", por Valsecchi, se concluye que dado el corto tiempo de respuesta que tiene el HemosIL, y su automatización completa, podría ser el ensayo de elección para detectar la actividad de ADAMTS13 en plasma en situaciones de emergencia (30).

Actualmente, además del HemosIL AcuStar como prueba rápida para el diagnóstico de PTT, se cuenta con el Technoscreen ADAMTS13 Activity, que es un test semicuantitativo que

utiliza un ensayo de actividad ELISA y tecnología de flujo continuo, cuyo objetivo es determinar los niveles de actividad de dicha enzima, y que se caracteriza por ser una herramienta de screening de fácil aplicación, ya que a diferencia del HemosIL, no necesita un equipo especializado, ni personal capacitado, que si lo requiere el Technozym. Por ende, puede ser utilizado en laboratorios remotos y no especializados, o en los que no tengan accesibilidad a test cuantitativos. Igualmente, si detecta niveles bajos de ADAMTS13, estos deben ser confirmados por un ensayo cuantitativo (26).

Technoscreen ADAMTS13 Activity consiste en primeramente incubar el plasma a testear con fragmentos de FvW para que sea clivado por el ADAMTS13, para que posteriormente se lo coloque en el dispositivo de esta prueba que está dotado de una membrana con anticuerpos IgG que reaccionan con el FvW escindido, lo cual es detectado por otro anticuerpo, biotinilado, que reacciona a su vez con estreptavidina-oro generando una coloración roja, que varía de intensidad según la cantidad de FvW escindido, y por ende, se correlaciona directamente con la actividad de ADAMTS13 del plasma utilizado (figura 9) (26).

Luego de diagnosticar el PTT, tras el hallazgo de una deficiencia grave de ADAMTS13, es necesario realizar pruebas de detección de anticuerpos que inhiben la función o aumentan la eliminación (no inhibidores) de dicha enzima, para distinguir entre PTT congénita y adquirida, la que comprende la mayoría de los casos, ya que la existencia de estos modifica el tratamiento y manejo de la patología (31) (32).

Se han descrito ensayos de autoanticuerpos anti-ADAMTS13 que emplean Western Blot o ELISA, siendo esta última técnica la más ampliamente utilizada porque el equipo y las técnicas son accesibles y más familiares, además de que son cuantitativas, mientras que el Western Blot es semicuantitativo (32).

Los ensayos de autoanticuerpos mediante ELISA detectan tanto los anticuerpos inhibidores como no-inhibidores, pero no pueden distinguir entre ellos; siendo el más utilizado el “Technozym® ADAMTS13 Inhibitor” fabricado por Technoclone (figura 10). Debido a esto se desarrollaron pruebas de mezcla, que sirven para detectar los anticuerpos inhibidores y se pueden cuantificar con ensayos tipos Bethesda (figura 11). Sin embargo, no todos los pacientes con PTTi poseen ambos tipos de anticuerpos y es posible que sólo tengan los no-inhibidores; por ende, si están disponibles, los ensayos de autoanticuerpos son los preferidos para confirmar esta patología (32).

En cuanto al costo-beneficio de disponer de pruebas que confirmen tempranamente el diagnóstico de PTT mediante la actividad de ADAMTS13, claro está que si el mismo se realiza

tempranamente el beneficio será mayor, dado que evita la elevada mortalidad que asocia y la posibilidad de secuelas y afectación irreversible de la funcionalidad de los órganos afectados, disminuyendo así el impacto económico de esta enfermedad (23). En adición a esto, según el estudio, “Potential impact of a delayed ADAMTS13 result in the treatment of thrombotic microangiopathy: an economic analysis”, elaborado por Chong H. Kim, entre otros; es necesario diagnosticar tempranamente el PTT para así evitar el uso de tratamientos costosos de forma innecesaria, por ende, los autores se plantearon como objetivo investigar cuál es el impacto económico del retraso en obtener los resultados de la dosificación de ADAMTS13, teniendo en cuenta que ésta por lo general no se realiza en el hospital donde ingresa el paciente con PTT, sino en laboratorios de referencia, lo que retrasa los resultados desde 24 horas hasta varios días. Considerando que el estudio se llevó a cabo en base a la inflación médica en dólares estadounidenses (USD) que había en el año 2018, se determinó que el costo de la dosificación del ADAMTS13 previa a la RPT fue de USD 407,75; mientras que el costo del primer RPT (incluyendo el procedimiento en sí, el catéter, los productos plasmáticos, y la tarifa de consulta médica) fue de USD 6.427,61; en un paciente de 70 kg. En los RPT posteriores, el costo fue de USD 4.756,39 si no se requirió cambio de catéter, ya que, de así requerirse, el costo pasaría a ser similar al del primer RPT (33). También se tuvo en cuenta el costo de la estadía hospitalaria, el cual fue de USD 2.264,36 por día; y si el paciente ingresa a cuidados intensivos, este costo pasa a ser de USD 4.588,34. Por ende, los investigadores concluyeron que los costos totales oscilaron entre USD 27.524 (resultado de ADAMTS13 a las 24 horas del día del ingreso del paciente) y USD 46.470 (resultado al quinto día del ingreso). En base a esto, el costo adicional obtenido por cada día de retraso se estimó entre USD 4.155 y 5.123; lo cual permite inferir que la obtención temprana de la dosificación del ADAMTS13 es rentable en comparación a la dosificación tardía, ya que el sistema sanitario puede perder hasta USD 5.123 por día de retraso en la dosificación en un solo paciente (33).

Otro estudio, “Economic impact of a rapid, on-demand ADAMTS-13 activity assay for the diagnosis of thrombotic thrombocytopenic purpura”, realizado por Alicia White, entre otros, en base a datos de Estados Unidos, Reino Unido, y Francia; coincidió con el hecho de que los ensayos de actividad de ADAMTS13 son llevados a cabo en laboratorios de referencia, lo cual determina un retraso de varios días en los resultados. Por esto, se plantearon como objetivo analizar el rendimiento del ensayo HemosIL AcuStar, ya que los resultados se obtienen en menos de una hora, lo cual reduciría el uso innecesario de RPT, sus eventos adversos, el traslado a hospitales especializados, y por ende los costos resultantes. Los investigadores

concluyeron que mediante el uso del Hemosil, los ahorros en cuanto a costos de ensayos de actividad ADAMTS13 y RPT durante 3 días podrían ser, por paciente con MAT, de 10.788 dólares en EE.UU., de 3.497 libras esterlinas en Reino Unido, y 4.700 euros en Francia; siendo al año, de 18 millones de dólares en EE.UU.; de 1,2 millones de libras esterlinas en Reino Unido; y de 1,6 millones de euros en Francia, es decir que determina un ahorro potencial de costos para los hospitales de dichos países. También concluyeron que, si se excluye el PTT y no se inicia la RPT, el ahorro sería de 19,3 millones de dólares; 1,3 millones de libras esterlinas; y 2,3 millones de euros en EE.UU., Reino Unido y Francia respectivamente (18).

Dado que el PTT es una enfermedad crónica, es necesario realizar un seguimiento de los pacientes, ya que luego de un episodio agudo existe riesgo de sufrir una recaída del 30-50%, que puede triplicarse si persisten los anticuerpos anti-ADAMTS13 o niveles de actividad < 10 UI/dl. Para evitar dicha recaída se puede realizar una monitorización de los niveles de actividad de la enzima, y si estos descienden a 15 o 20 UI/dL se podrá iniciar un tratamiento electivo con Rituximab con el objetivo de normalizar dichos niveles y evitar las potenciales secuelas que pueden surgir. Además del riesgo de recaída, una actividad disminuida por debajo del valor normal de ADAMTS13 aumenta el riesgo de accidente cerebrovascular comparado con pacientes sin PTT, por esto la guía de la Sociedad Británica de Hematología recomienda considerar en estos pacientes una terapia a largo plazo con antiagregantes plaquetarios, y si se requiere, antiepilépticos (34).

Además, dicha guía plantea que es conveniente realizar estudios que permitan valorar las repercusiones en la funcionalidad renal, cerebral y cardíaca, tales como ecocardiograma, función renal, resonancia magnética de cráneo, entre otros. Asimismo, se debe a través del examen físico buscar alteraciones que puedan indicar disfunción orgánica, tales como el aumento de la presión arterial, y alteraciones de la memoria, ansiedad o depresión mediante una evaluación neurocognitiva (34).

Además del papel indiscutible que cumplen las pruebas de ADAMTS13 en el diagnóstico diferencial de las MAT, se plantea también su utilidad en el seguimiento del paciente durante el tratamiento y en los períodos de remisión de la enfermedad, ya que pueden predecir recaídas (11). Sin embargo, vale mencionar que aún es incierta la frecuencia con la cual debería monitorizarse, así como el valor de actividad de ADAMTS13 a utilizar como punto de corte para iniciar un tratamiento preventivo y la asociación entre la variabilidad existente durante la remisión de la actividad de ADAMTS13 y el riesgo de recaída (35).

Se han realizado diversos estudios, como por ejemplo el de Jin et al y el de Flora Peyvandi et al, para demostrar la asociación existente entre el rol del ADAMTS13 y el riesgo de recaída. En todos ellos, los autores encontraron niveles de actividad de ADAMTS13 y de antígeno reducidos y de anticuerpos anti-ADAMTS13 aumentados en aquellos pacientes supervivientes de un episodio agudo de PTT que posteriormente presentaron una recaída (35) (36). Respecto a ello, es la actividad de ADAMTS13 gravemente deficiente la que asocia mayor probabilidad de presentar recaídas, que, sumado a la presencia de anticuerpos durante la remisión, esta probabilidad aumenta aproximadamente 3 veces (36). A pesar de esto, se plantea que hay casos en los cuales los niveles de ADAMTS13 no tienen correlación con la evolución clínica de la patología, presentando periodos de remisión prolongados pese a presentar niveles de actividad de la enzima indetectables, tal como mencionan los autores J. Evan Sandler et al (5).

En resumen, aunque la deficiencia severa de la actividad de ADAMTS13 en pacientes que se encuentran en remisión es un potencial factor de riesgo de recaída, no significa que ésta se produzca. Por ello es necesario el desarrollo de nuevos biomarcadores más precisos para predecir eventuales recaídas, ya que no existen marcadores de laboratorio estandarizados, y si bien se han descrito algunos que podrían predecir la mortalidad, aún falta evidencia para poder promover su uso generalizado (35) (37).

Sin embargo, con fines prácticos, según la Conferencia de consenso “Recomendaciones para el abordaje clínico de pacientes con púrpura trombocitopénica trombótica” del Grupo Español de Aféresis, se recomienda la realización de controles para el seguimiento en forma mensual los 3 primeros meses, trimestralmente los siguientes 9 meses, y luego semestralmente, durante por lo menos 2 años. También recomiendan detectar semanalmente los niveles de ADAMTS13 hasta su normalización, que, de no ser así, se podrá modificar la frecuencia de la dosificación de la enzima (38).

DISCUSIÓN

En este trabajo se realizó una búsqueda bibliográfica narrativa de la evidencia disponible acerca del diagnóstico de microangiopatías trombóticas, especialmente el de PTT, dada la elevada morbimortalidad que implica un diagnóstico tardío de la misma. Respecto a ello, actualmente se cuenta con distintas técnicas diagnósticas que se basan en la dosificación de la actividad de ADAMTS13, incluyendo ELISA, quimioluminiscencia y FRETTS.

En base a los resultados obtenidos, el test más difundido sería el ELISA Technozym ADAMTS13 Activity, el cual si bien no brinda resultados en menos de 4 horas y necesita equipo especializado y personal capacitado, tiene una mayor adaptación a equipos genéricos de uso común. Más recientemente, se han desarrollado pruebas rápidas con el objetivo de obtener un diagnóstico precoz tales como Hemosil Acustar, que se basa en quimioluminiscencia y es totalmente automatizada, y Technoscreen ADAMTS13 Activity que es un ensayo semicuantitativo de actividad ELISA, teniendo estos la desventaja de que sus resultados presentan variaciones según la plataforma utilizada, por ende si se detecta una actividad de ADAMTS13 deficiente puede necesitarse la confirmación del resultado a través de un ensayo basado en FRETTS, principalmente cuando la sospecha clínica de PTT es baja.

En la práctica diaria existe una demora adicional, incluso de varios días, dada por la obtención y el transporte de la muestra hacia el laboratorio donde se llevará a cabo la técnica diagnóstica, teniendo en cuenta la limitada accesibilidad a las distintas pruebas que tienen los diferentes centros asistenciales. Esta situación no escapa a nuestro país, tal es así que hasta el año 2022 solo se accedía a la determinación plasmática de ADAMTS13 mediante el envío de la muestra al exterior, con altos costos y demoras inapropiadas, teniendo en cuenta la urgencia diagnóstica que asocia la patología. Recientemente es posible realizarlo en nuestro país de forma centralizada en el Hospital Universitario (Hospital de Clínicas "Dr. Manuel Quintela"), en el que se incorporó la técnica Hemosil Acustar quimioluminiscente.

Si bien en las últimas décadas ha aumentado la información disponible sobre esta enfermedad, faltan datos sobre los resultados a largo plazo, ya que la mayoría de la evidencia se ha obtenido a partir de datos retrospectivos, de series e informes de casos. Así mismo, es importante destacar que múltiples estudios recopilados para este trabajo incluían una cantidad limitada de pacientes, consecuencia de la poca prevalencia de la enfermedad y de que los criterios de inclusión de los mismos generan una reducción importante de la cantidad de participantes.

En este análisis no se incluyen poblaciones específicas que requieren consideraciones particulares, siendo el caso de pacientes embarazadas, trasplantados y población pediátrica, dada la limitación temporal, la extensión del trabajo y su compleja fisiopatología.

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

A lo largo de los años el conocimiento de los mecanismos de la enfermedad ha ido avanzando, así como también las pruebas diagnósticas disponibles y su variabilidad, lo cual permitió combinar el diagnóstico sindrómico con el diagnóstico fisiopatológico y así buscar estrategias específicas para diferenciar las entidades causantes de la enfermedad en cuestión. Todo esto resulta en una menor morbimortalidad de los pacientes con esta enfermedad. Si bien el costo de las pruebas es elevado e implica una barrera, reduce significativamente los costos sanitarios de los tratamientos innecesarios, por lo que disponerlos para poder realizar un diagnóstico precoz y orientado es una gran inversión a largo plazo. Sin embargo, aún son necesarias evidencias de alta calidad para poder respaldar con mayor certeza las recomendaciones sobre un mejor y más eficaz diagnóstico y manejo inicial en un paciente con sospecha de MAT.

Como perspectiva de este trabajo, sería interesante darle continuidad indagando cómo influye la enfermedad en las poblaciones especiales, así como también los tratamientos empleados en las diferentes etiologías, los cuales fueron excluidos de esta revisión ya que excedían los objetivos y límites establecidos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Contreras E, de la Rubia J, del Río-Garma J, Díaz-Ricart M, García-Gala JM, Lozano M. Guía diagnóstica y terapéutica de las microangiopatías trombóticas del Grupo Español de Aféresis. *Med Clínica*. 2015;144(7):331.e1-331.e13.
2. Sans-Sabrafen J, Raebel Raebel C, Vives Corrons JL. *Hematología clínica*. Quinta. Madrid, España: Elsevier;
3. Ruiz-Torres MP, Casighari F, Noris M, Macconi D, Galbusera M, Remuzzi G. [Mechanisms of endothelial damage in thrombotic microangiopathy]. *Nefrol Publicacion Of Soc Espanola Nefrol*. 2003;23 Suppl 3:25-7.
4. Fernández Tresguerres J. *Fisiología Humana*. Cuarta. México: McGRAW-HILL; 2010.
5. Sadler JE, Moake JL, Miyata T, George JN. Recent advances in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Hematol Am Soc Hematol Educ Program*. 2004;407-23.
6. Kaminker AJ, Carreras LO. [Physiopathology of thrombotic microangiopathy]. *Sangre (Barc)*. abril de 1989;34(2):130-5.
7. Zheng XL, Vesely SK, Cataland SR, Coppo P, Geldziler B, Iorio A, et al. ISTH guidelines for the diagnosis of thrombotic thrombocytopenic purpura. *J Thromb Haemost JTH*. octubre de 2020;18(10):2486-95.
8. Tarasco E, Bütikofer L, Friedman KD, George JN, Hrachovinova I, Knöbl PN, et al. Annual incidence and severity of acute episodes in hereditary thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood*. 24 de junio de 2021;137(25):3563-75.
9. Hanna RM, Henriksen K, Kalantar-Zadeh K, Ferrey A, Burwick R, Jhaveri KD. Thrombotic Microangiopathy Syndromes-Common Ground and Distinct Frontiers. *Adv Chronic Kidney Dis*. marzo de 2022;29(2):149-160.e1.
10. Bouarich H, Fernández Rodríguez ML, Blasco Martínez A. Microangiopatías trombóticas. *Med - Programa Form Médica Contin Acreditado*. 1 de junio de 2019;12(82):4823-30.
11. Lencinas G, Peres S, Aranda F, Larrañaga G de. ADAMTS-13: diagnóstico de laboratorio. *Rev Hematol*. 30 de abril de 2020;24(1):95-100.
12. MOSCHCOWITZ E. AN ACUTE FEBRILE PLEIOCHROMIC ANEMIA WITH HYALINE THROMBOSIS OF THE TERMINAL ARTERIOLES AND CAPILLARIES: AN UNDESCRIBED DISEASE. *Arch Intern Med*. 1 de julio de 1925;36(1):89-93.
13. Knöbl P. Thrombotic thrombocytopenic purpura. *Memo - Mag Eur Med Oncol*. septiembre de 2018;11(3):220-6.
14. Saba H, Roberts H. *Hemostasis and thrombosis : practical guidelines in clinical management*. Wiley-Blackwell; 2014. 344 p.
15. Barrientos GJ, Michelángelo H. Microangiopatía trombótica en adultos. *Med B Aires*. agosto de 2006;66(4):289-95.
16. Michael M, Bagga A, Sartain SE, Smith RJH. Haemolytic uraemic syndrome. *The Lancet*. 12 de noviembre de 2022;400(10364):1722-40.
17. Pau Parra A, Ramos N, Perurena-Prieto J, Manrique-Rodríguez S, Climente M, García Quintanilla L, et al. Pharmacokinetics of eculizumab in adult and pediatric patients with atypical hemolytic uremic syndrome and C3 glomerulopathy. *Farm Hosp Organo Of Expresion Cient Soc Espanola Farm Hosp*. 21 de agosto de 2023;S1130-6343(23)00103-4.
18. White A, Martin R, Sew K, Stucke A, Cook R. Economic impact of a rapid, on-demand ADAMTS-13 activity assay for the diagnosis of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Res Pract Thromb Haemost*. mayo de 2022;6(4):e12711.
19. Renaud A, Caristan A, Seguin A, Agard C, Blonz G, Canet E, et al. Deleterious neurological impact of diagnostic delay in immune-mediated thrombotic thrombocytopenic purpura. *PLoS One*. 2021;16(11):e0260196.
20. Baysal M, Ümit E, Kirkızlar HO, Demir AM. Comparison of Clinical Scoring Systems in the

- Management of Patients with Microangiopathic Hemolytic Anemia and Thrombocytopenia. *Turk J Haematol Off J Turk Soc Haematol*. 25 de febrero de 2021;38(1):64-8.
21. Bentley MJ, Lehman CM, Blaylock RC, Wilson AR, Rodgers GM. The utility of patient characteristics in predicting severe ADAMTS13 deficiency and response to plasma exchange. *Transfusion (Paris)*. 2010;50(8):1654-64.
 22. Yilmaz S, Cenel O, Tekinalp A. Utility of Different Scoring Systems for the Diagnosis of Thrombotic Microangiopathies. *J Coll Physicians Surg--Pak JCPSP*. mayo de 2023;33(5):539-43.
 23. Uriol Rivera MG, Cabello Pelegrin S, Ballester Ruiz C, López Andrade B, Lumbreras J, Obrador Mulet A, et al. Impact of a multidisciplinary team for the management of thrombotic microangiopathy. *PLoS One*. 2018;13(11):e0206558.
 24. Moore GW, Llusà M, Griffiths M, Binder NB. ADAMTS13 Activity Measurement by ELISA and Fluorescence Resonance Energy Transfer Assay. En: Favalaro EJ, Gosselin RC, editores. *Hemostasis and Thrombosis: Methods and Protocols* [Internet]. New York, NY: Springer US; 2023 [citado 2 de noviembre de 2023]. p. 533-47. (Methods in Molecular Biology). Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3175-1_35
 25. Favalaro EJ, Pasalic L. An Overview of Laboratory Testing for ADAMTS13. En: Favalaro EJ, Gosselin RC, editores. *Hemostasis and Thrombosis: Methods and Protocols* [Internet]. New York, NY: Springer US; 2023 [citado 2 de noviembre de 2023]. p. 481-6. (Methods in Molecular Biology). Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3175-1_31
 26. Moore GW, Griffiths M, Binder NB. ADAMTS13 Activity: Screening Test Protocol. En: Favalaro EJ, Gosselin RC, editores. *Hemostasis and Thrombosis: Methods and Protocols* [Internet]. New York, NY: Springer US; 2023 [citado 2 de noviembre de 2023]. p. 523-31. (Methods in Molecular Biology). Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3175-1_34
 27. Favalaro EJ, Chapman K, Mohammed S, Vong R, Pasalic L. Automated and Rapid ADAMTS13 Testing Using Chemiluminescence: Utility for Identification or Exclusion of TTP and Beyond. En: Favalaro EJ, Gosselin RC, editores. *Hemostasis and Thrombosis: Methods and Protocols* [Internet]. New York, NY: Springer US; 2023 [citado 2 de noviembre de 2023]. p. 487-504. (Methods in Molecular Biology). Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3175-1_32
 28. Favalaro EJ, Mohammed S, Chapman K, Swanepoel P, Zebeljan D, Sefhore O, et al. A multicenter laboratory assessment of a new automated chemiluminescent assay for ADAMTS13 activity. *J Thromb Haemost JTH*. febrero de 2021;19(2):417-28.
 29. Pascual C, Nieto JM, Fidalgo T, Seguí IG, Díaz-Ricart M, Docampo MF, et al. Multicentric evaluation of the new HemosIL Acustar® chemiluminescence ADAMTS13 activity assay. *Int J Lab Hematol*. junio de 2021;43(3):485-93.
 30. Valsecchi C, Mirabet M, Mancini I, Biganzoli M, Schiavone L, Faraudo S, et al. Evaluation of a New, Rapid, Fully Automated Assay for the Measurement of ADAMTS13 Activity. *Thromb Haemost*. noviembre de 2019;119(11):1767-72.
 31. Favalaro EJ, Chapman K, Mohammed S, Vong R, Pasalic L. Identification of ADAMTS13 Inhibitors in Acquired TTP. En: Favalaro EJ, Gosselin RC, editores. *Hemostasis and Thrombosis: Methods and Protocols* [Internet]. New York, NY: Springer US; 2023 [citado 2 de noviembre de 2023]. p. 505-21. (Methods in Molecular Biology). Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3175-1_33
 32. Moore GW, Vetr H, Binder NB. ADAMTS13 Antibody and Inhibitor Assays. En: Favalaro EJ, Gosselin RC, editores. *Hemostasis and Thrombosis: Methods and Protocols* [Internet]. New York, NY: Springer US; 2023 [citado 2 de noviembre de 2023]. p. 549-65. (Methods in Molecular Biology). Disponible en: https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3175-1_36

33. Kim CH, Simmons SC, Wattar SF, Azad A, Pham HP. Potential impact of a delayed ADAMTS13 result in the treatment of thrombotic microangiopathy: an economic analysis. *Vox Sang.* 2020;115(5):433-42.
34. Scully M, Rayment R, Clark A, Westwood JP, Cranfield T, Gooding R, et al. A British Society for Haematology Guideline: Diagnosis and management of thrombotic thrombocytopenic purpura and thrombotic microangiopathies. *Br J Haematol.* 16 de agosto de 2023;
35. Masias C, Cataland SR. The role of ADAMTS13 testing in the diagnosis and management of thrombotic microangiopathies and thrombosis. *Blood.* 30 de agosto de 2018;132(9):903-10.
36. Peyvandi F, Lavoretano S, Palla R, Feys HB, Vanhoorelbeke K, Battaglioli T, et al. ADAMTS13 and anti-ADAMTS13 antibodies as markers for recurrence of acquired thrombotic thrombocytopenic purpura during remission. *Haematologica.* 1 de febrero de 2008;93(2):232-9.
37. Henao-Piedrahita N. Microangiopatías trombóticas primarias: una revisión narrativa. *Med Lab.* 5 de abril de 2021;25(2):485-99.
38. Mingot Castellano ME, Pascual Izquierdo C, González A, Viejo Llorente A, Valcarcel Ferreiras D, Sebastián E, et al. Recomendaciones para el abordaje clínico de pacientes con púrpura trombocitopénica trombótica. *Med Clínica.* junio de 2022;158(12):630.e1-630.e14.

ANEXOS

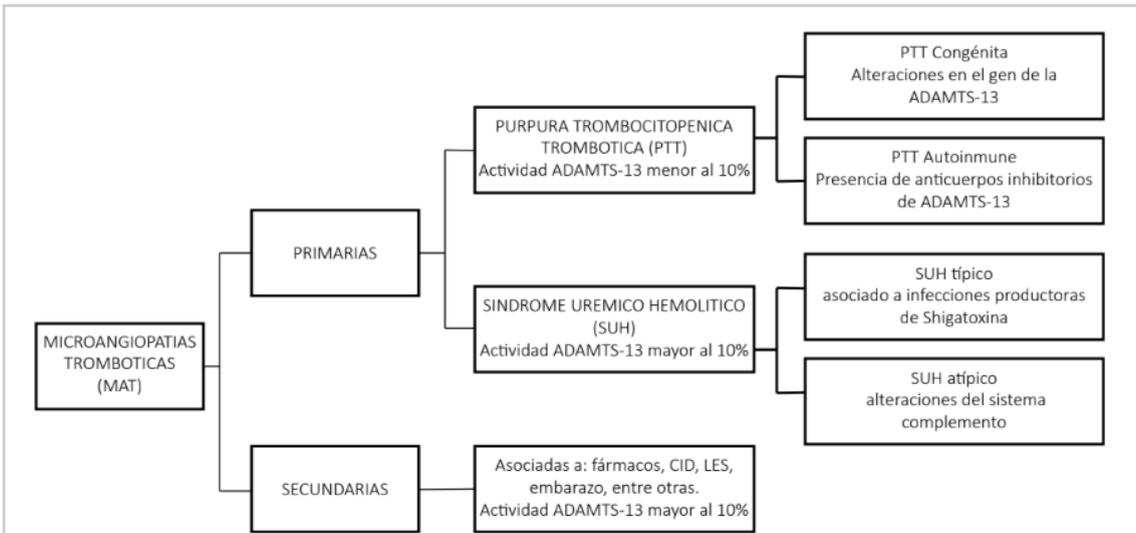


Fig. 2 Clasificación de las MAT primarias y secundarias. Extraído de: Lencinas G, Peres S, Aranda F, Larrañaga G de. ADAMTS-13: diagnóstico de laboratorio. Rev Hematol. 30 de abril de 2020;24(1):95-100.

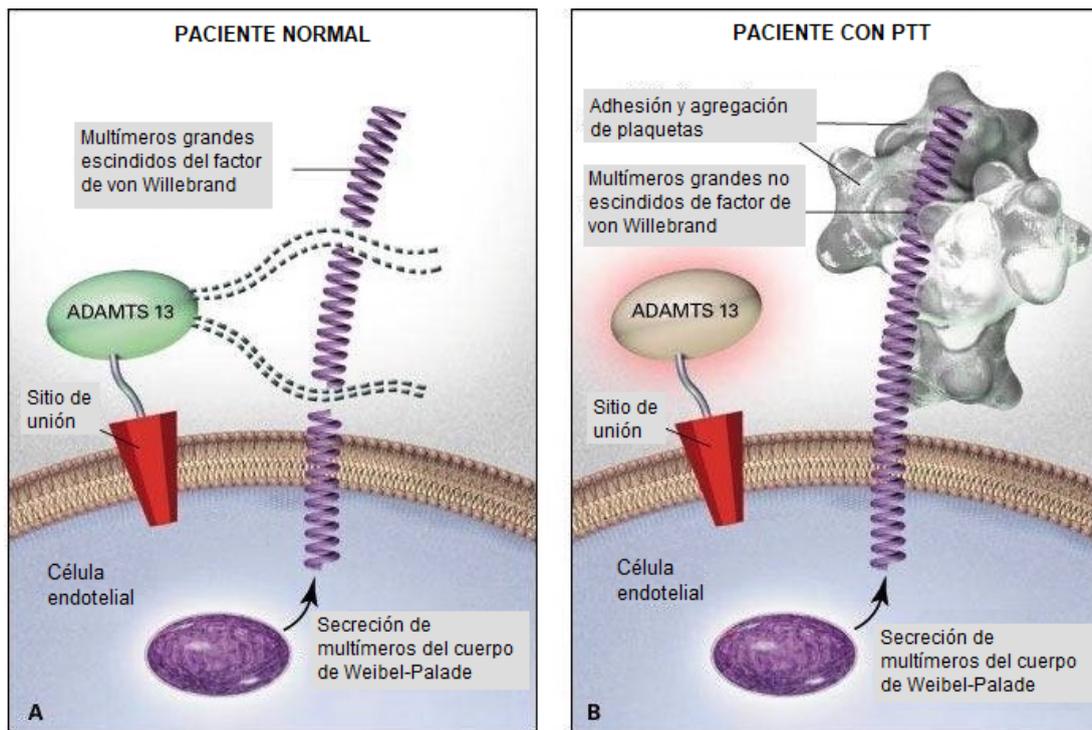


Fig. 3 En el Panel A, en pacientes normales, las moléculas ADAMTS13 se unen a los sitios específicos en la superficie de las células endoteliales y clivan los multímeros de mayor tamaño del factor von Willebrand a medida que las células endoteliales los secretan. Las moléculas del factor von Willebrand que circulan luego de ser clivadas no inducen la adhesión y agregación plaquetaria. En el Panel B, si la actividad de ADAMTS13 es ausente o muy reducida no hay escisión de los multímeros inusualmente grandes del factor von Willebrand, por lo que hay adhesión y agregación plaquetaria. Modificado de: Moake JL. Thrombotic microangiopathies. N Engl J Med. 22 de agosto de 2002;347(8):589-600.

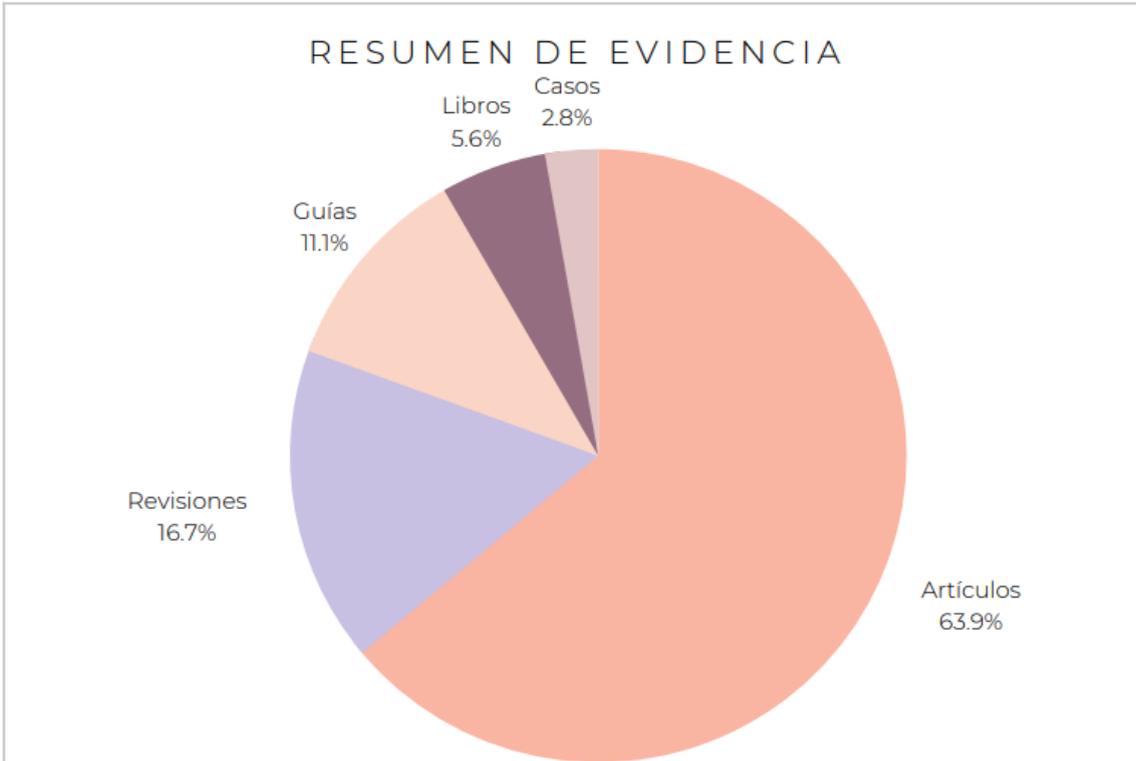


Fig. 4 Gráfico de resumen de evidencia.

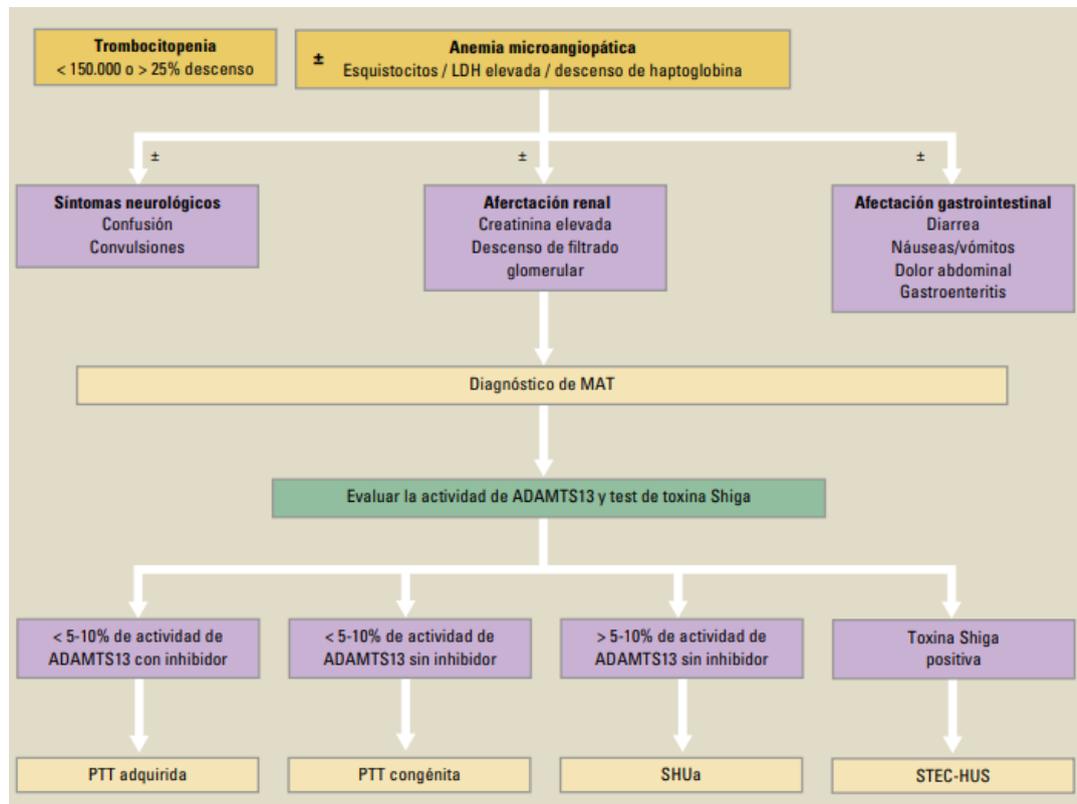


Fig. 5 Algoritmo diagnóstico de MAT: consiste en realizar primero un diagnóstico sindrómico y posteriormente un diagnóstico etiológico. Extraído de: Guerra-Torres XE, Bouarich H. Protocolo diagnóstico y tratamiento del síndrome hemolítico urémico y la púrpura trombótica trombocitopénica. *Med - Programa Form Médica Contin Acreditado*. junio de 2019;12(82):4860-3.

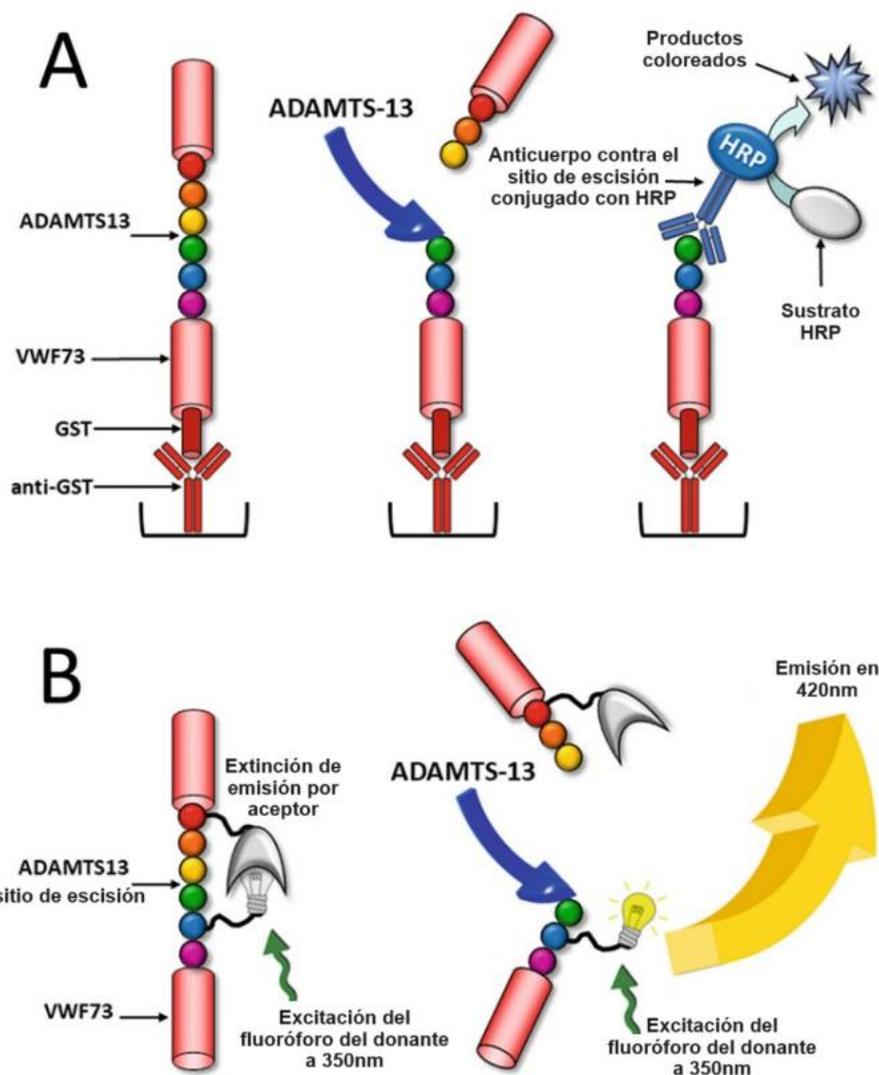


Fig. 6 Principios de las pruebas de medición de la actividad de ADAMTS13 (A) ELISA, los pocillos de la microplaca vienen recubiertos con un anticuerpo monoclonal dirigido contra glutatión-S-transferasa (GST). Se inicia con la incorporación del sustrato FVW73, el cual está marcado con GST para que quede inamovible en la microplaca. Luego de incubar, el reactivo residual es lavado y se agregan las diluciones plasmáticas de calibrador, control y prueba. ADAMTS13 escindirá el FVW73 en el plasma y de esa forma expondrá el sitio de escisión. Posterior a la incubación, tanto el plasma residual como el sector del FVW73 posterior al sitio de escisión, son lavados y se adicióna un anticuerpo monoclonal dirigido hacia el sector de escisión de ADAMTS13 unido con la proteína HRP. El número de uniones generadas condice proporcionalmente con la cantidad de sitios de escisión expuestos y, de ahí que representa la actividad de ADAMTS13. El excedente de conjugado se eliminará mediante lavado, para luego añadir un sustrato incoloro de HRP, 3,3',5,5'- tetrametilbencidina (TMB), el cual reaccionará con HRP generando TMB oxidado, que es de color azul. Posterior a este procedimiento, la reacción se detiene con ácido sulfúrico, generando así un color amarillo claro por la oxidación completa de TMB, absorbido a 450 nm. La actividad de ADAMTS13 se mide a través de la intensidad del color generado, ya que este es proporcional al conjugado unido. (B) FRET, el FVW73 es marcado con un fluoróforo donante, así como con un aceptor extinguido de oscuridad, que están muy cerca pero están separados por el sitio de escisión de ADAMTS13. La fluorescencia generada mediante la excitación del fluoróforo donante, producida a 340 nm, es transferida al aceptor y se apaga. La escisión de ADAMTS13 en el FVW, desvincula al donante del aceptor, y de esta manera evita la extinción de transferencia de energía, permitiendo así la emisión de fluorescencia. La cantidad de fluorescencia generada tiene una relación directamente proporcional con la actividad de ADAMTS13. Modificado de: Moore GW, Llusà M, Griffiths M, Binder NB. ADAMTS13 Activity Measurement by ELISA and Fluorescence Resonance Energy Transfer Assay. *Hemostasis and Thrombosis: Methods and Protocols*. New York, NY: Springer US; 2023. p. 533-47.

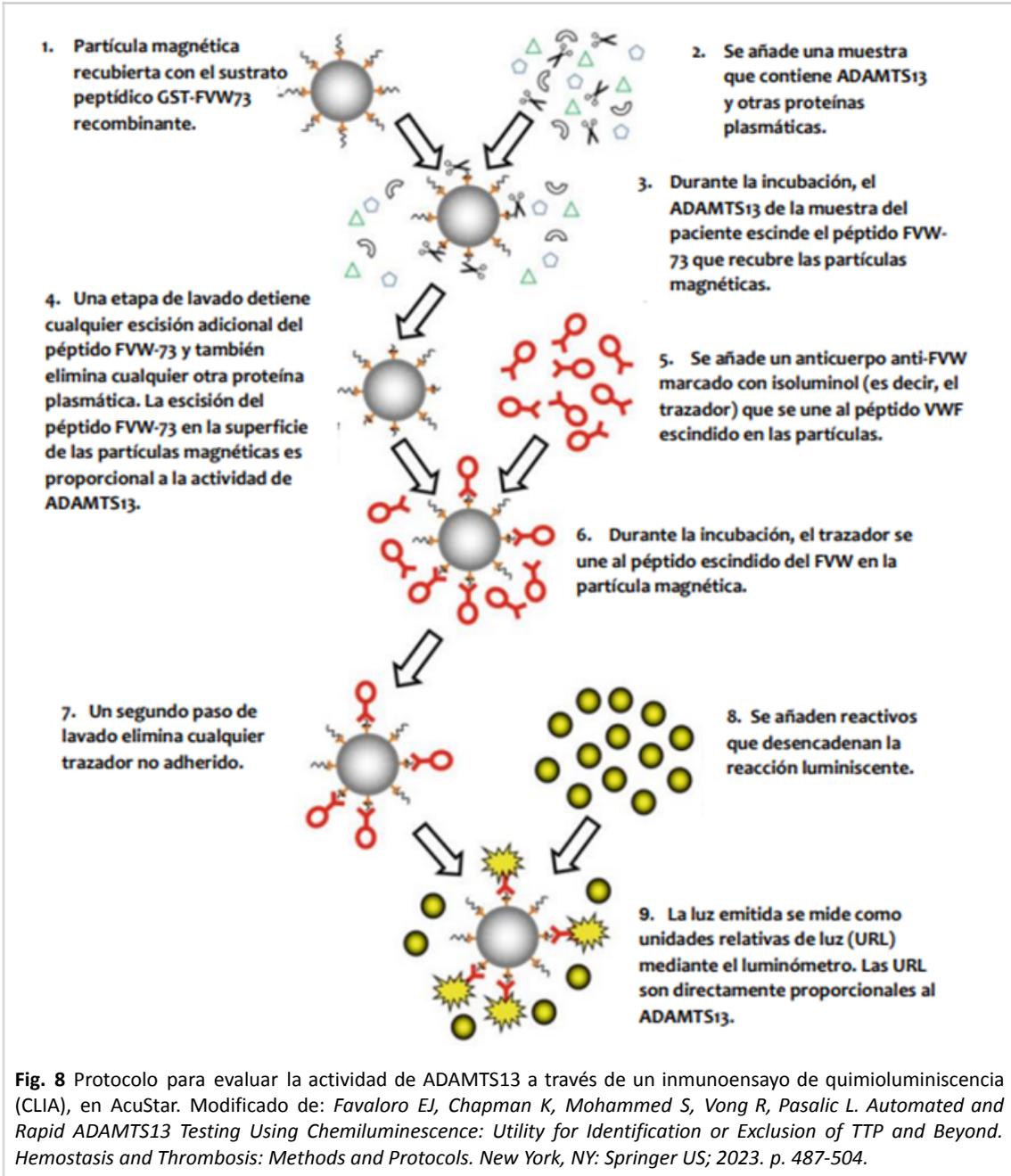


Fig. 8 Protocolo para evaluar la actividad de ADAMTS13 a través de un inmunoensayo de quimioluminiscencia (CLIA), en AcuStar. Modificado de: *Favaloro EJ, Chapman K, Mohammed S, Vong R, Pasalic L. Automated and Rapid ADAMTS13 Testing Using Chemiluminescence: Utility for Identification or Exclusion of TTP and Beyond. Hemostasis and Thrombosis: Methods and Protocols. New York, NY: Springer US; 2023. p. 487-504.*

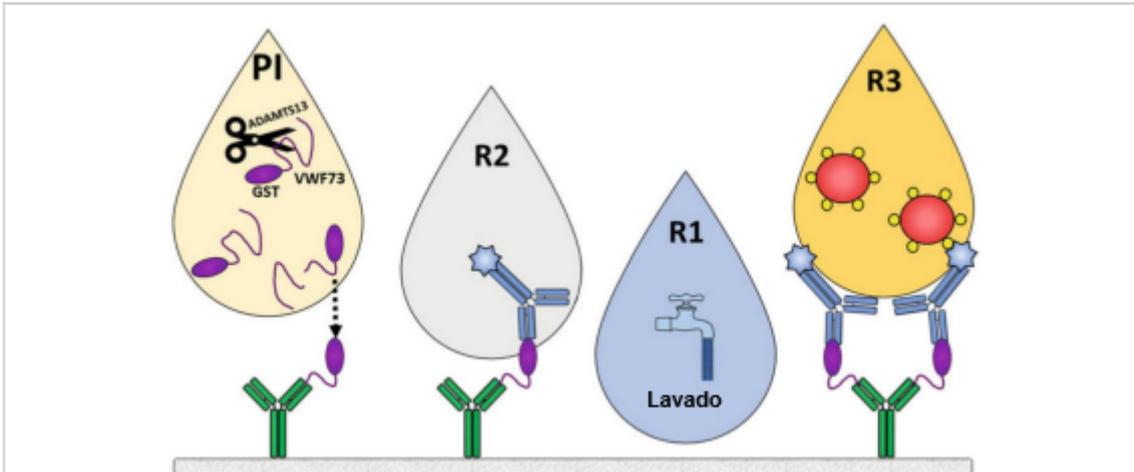
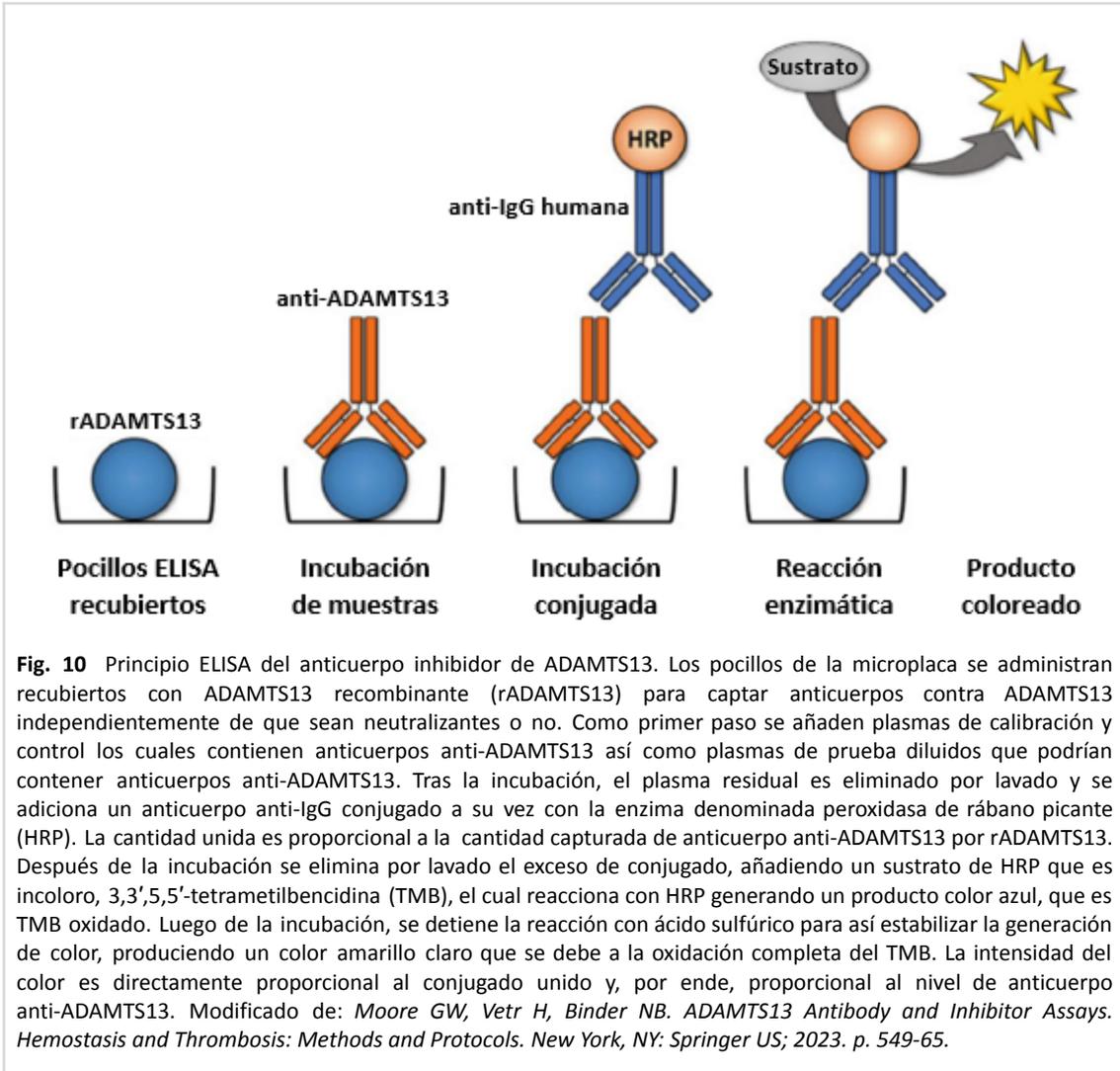


Fig. 9 Principio del ensayo Technoscreen ADAMTS13. La mezcla de preincubación (PI) está conformada por plasma de prueba y un fragmento específico del factor von Willebrand (VWF73), dado que contiene el sitio de acción del ADAMTS13 marcado con glutatión S-transferasa (GST). Tras la incubación, la muestra se coloca en el pocillo de prueba que contiene a su vez una membrana donde se inmoviliza un anticuerpo IgG que se une a los VWF escindidos por ADAMTS13. En un segundo pocillo, se coloca otra membrana que también contiene anticuerpos, en este caso, policlonales anti-GST para unirse a VWF73 escindido e intacto, actuando como control. De esta manera, a medida que fluye la muestra a través del pocillo de prueba, el anticuerpo específico se une al VWF73 escindido, mientras que el VWF73 escindido e intacto es capturado por la membrana de control. Posterior a esto, se añade en cada pocillo el reactivo 2 (R2) que está formado por un anticuerpo anti-GST biotinilado, que reacciona con todo el VWF73 capturado.

Se procede con el lavado con el Reactivo 1 (R1), y se le agrega el Reactivo 3 (R3) formado por conjugados de nanopartículas de estreptavidina y oro, diseñados para unirse a la biotina del VWF73 capturado. Posteriormente se vuelve a lavar con el Reactivo 1 con el objetivo de eliminar las nanopartículas que no se unieron. El grado de unión, entre las nanopartículas y la biotina, produce una intensidad de color que es directamente proporcional a la cantidad de VWF73 capturado, lo que es proporcional a la actividad de ADAMTS13 en el pocillo de prueba. Modificado de: Moore GW, Griffiths M, Binder NB. *ADAMTS13 Activity: Screening Test Protocol. Hemostasis and Thrombosis: Methods and Protocols*. New York, NY: Springer US; 2023. p. 523-31.



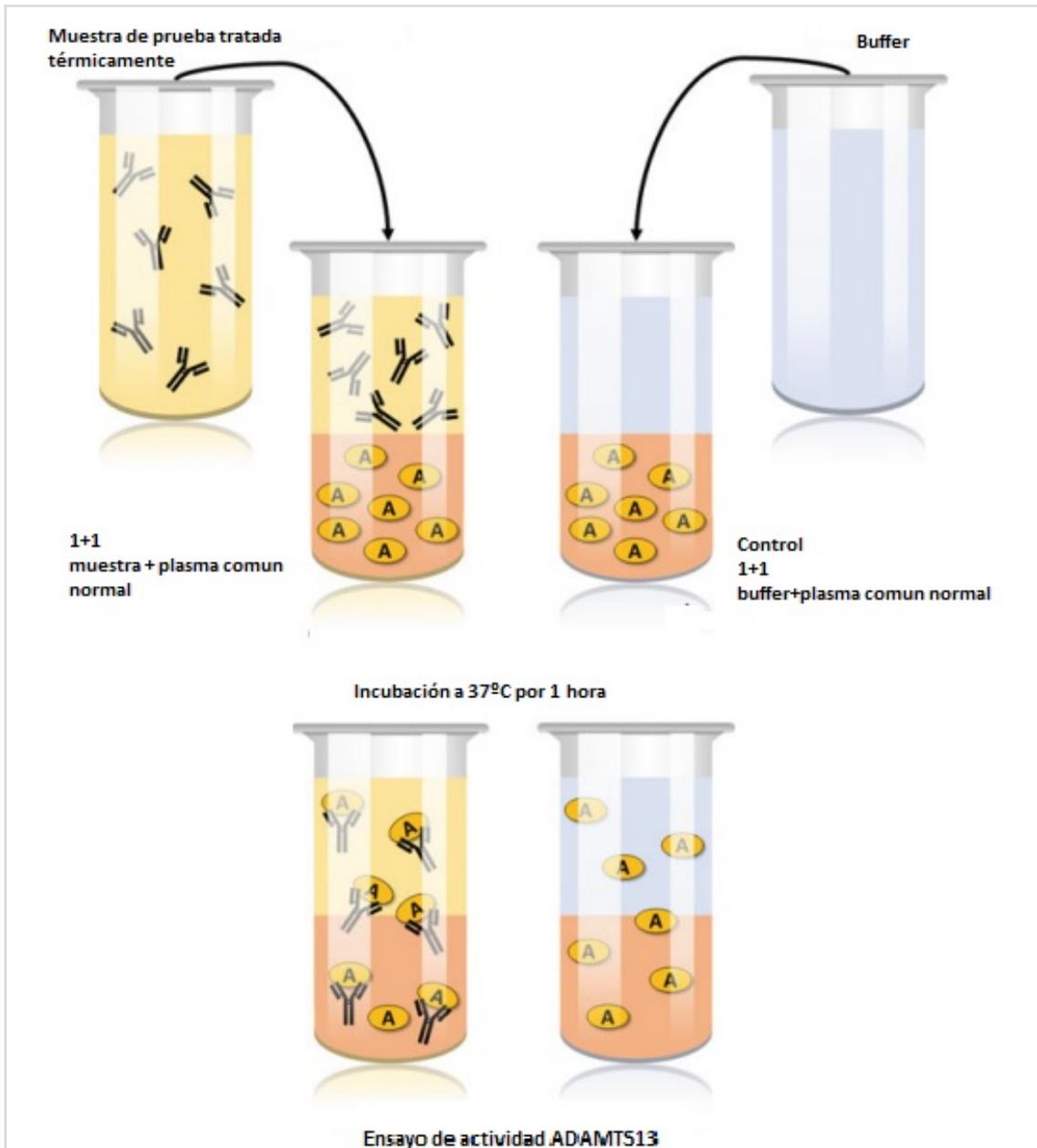


Fig. 11 Ensayo Bethesda para detección de anticuerpos inhibidores de ADAMTS13. El plasma es tratado térmicamente con el objetivo de inactivar cualquier ADAMTS13 aún presente, dejando así intactos los anticuerpos plasmáticos. Luego parte de este se mezcla con un volumen de plasma normal combinado, siendo esta la única fuente de ADAMTS13 del ensayo. Por otro lado, se prepara una mezcla de control la cual comprende iguales volúmenes de plasma normal y buffer para que así ambos tubos comiencen el ensayo con niveles idénticos de ADAMTS13. Dichos tubos son incubados durante 1 h permitiendo así la formación de complejos anticuerpo/antígeno del tubo de muestra del paciente. En cuanto a la actividad residual de la enzima en el tubo de muestra se analiza empleando como calibrador la muestra de control, determinando la actividad residual como porcentaje de la muestra control.

1 unidad Bethesda es la cantidad de inhibidor que logra neutralizar el 50 % de la actividad ADAMTS13 en un volumen de plasma normal. Modificado de: Moore GW, Vetr H, Binder NB. ADAMTS13 Antibody and Inhibitor Assays. *Hemostasis and Thrombosis: Methods and Protocols*. New York, NY: Springer US; 2023. p. 549-65.