

Anabolic androgenic steroids in the treatment of acquired aplastic anemia

Sánchez-Medal L, Gómez-Leal A, Duarte L, Rico G

La Agrupación Mexicana para el Estudio de la Hematología (AMEH) inicia una nueva sección académica dedicada a reconocer y difundir el trabajo de investigación realizado en nuestro país por hematólogos mexicanos. En cada edición de la *Revista de Hematología* se incluirá un “trabajo clásico” que será revisado por un miembro de la AMEH, con experiencia en el tema del artículo.

Así, pues, esta sección se inicia con un estudio reportado hace poco más de 40 años por el **Dr. Luís Sánchez Medal** y su grupo de colaboradores. Este estudio, que se ha convertido en un clásico a nivel mundial, constituyó una de las piedras angulares para establecer el empleo de los esteroides anabólicos como parte fundamental del tratamiento de pacientes con anemia aplásica. La revisión del artículo ha sido realizada por el **Dr. Xavier López Karpovitch**, médico-investigador del Departamento de Hematología del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán y miembro de la Academia Nacional de Medicina y del Sistema Nacional de Investigadores.

TRABAJO CLÁSICO

Sánchez-Medal L, Gómez-Leal A, Duarte L, Rico G. *Anabolic androgenic steroids in the treatment of acquired aplastic anemia*. Blood 1969;34:283-300.

Resumen del trabajo

Antecedentes: la testosterona ha mejorado el pronóstico de niños con anemia aplásica o aplásica congénita y adquirida, pero al parecer esta hormona es menos efectiva en el tratamiento de adultos con anemia aplásica.

Objetivo: evaluar la respuesta hematológica en pacientes con anemia aplásica adquirida tratados con diferentes compuestos androgénicos.

Material y método: se analizó, retrospectivamente, la respuesta hematológica en 14 niños y 55 adultos con anemia aplásica adquirida. La edad osciló entre 5 y 87 años, 38 eran del sexo femenino. La mayoría de los casos mostró neutropenia y todos tenían anemia normocítica y trombocitopenia. La abundancia celular o celularidad en médula ósea se encontró aumentada en 4 pacientes, normal en 15 y disminuida en 50 enfermos (72.5%) y los megacariocitos estaban disminuidos en todos los casos. En ningún paciente se encontraron crecimientos ganglionares y esplenomegalia, así como datos clínicos o de laboratorio de infección, neoplasias malignas y estados deficitarios. El 26% de los casos se clasificaron como idiopáticos. En 21, 11, 11, 10 y 4 enfermos la causa de la anemia aplásica se asoció con insecticidas, fenilbutazona, cloramfenicol, benceno y otros agentes, respectivamente. El tiempo transcurrido entre el diagnóstico y el inicio del tratamiento fue menor de dos meses en 25 casos, entre 2.1 y 6 meses en 21, entre 6.1 y 12 meses en 12 y entre 13 a 46 meses en 11 pacientes. La terapia previa consistió en: prednisona en 30 pacientes, esplenectomía en 7, testosterona en 2 y ácido fólico y vitaminas B₆ y B₁₂ en 30 enfermos. En ninguno de los casos se observó respuesta a estos tratamientos. Cincuenta y nueve (85.5%) casos recibieron oximetolona, 17 pacientes metenolona, 5 metolona o dromostanolona y 2 enfermos recibieron metandrostenedolona. Todos los fármacos se administraron por vía oral en dosis que oscilaron entre 0.25 a 3 mg/kg de peso/día. Veinte pacientes recibieron menos de 1 mg, 30 entre 1 a 2 mg y 19 enfermos recibieron entre 2.1 y 3 mg/kg de peso/día. En dos casos la dosis se incrementó a 5 mg/Kg de peso/día por falta de respuesta. Cuarenta (58%) casos recibieron prednisona (15 a 60 mg/día) u otro glucocorticoide de manera simultánea, por periodos variables, con los andrógenos.

La remisión se definió como un incremento sostenido en la hemoglobina (Hb) por más de 12 g/dL en mujeres y más de 13 g/dL en hombres. El análisis estadístico se efectuó con la prueba de Student.

Resultados: la remisión ocurrió en 33 pacientes (47.9%). En 6 de 14 casos con falla terapéutica la dosis de oximetolona fue menor de 1mg/kg de peso/día. Los signos iniciales de mejoría (aumento de reticulocitos y Hb entre 7 y 9 g/dL) sucedieron entre los 15 días y 6 meses (mediana dos meses) de tratamiento. La mejoría en neutrófilos (40% de los pacientes) y plaquetas (33% de los enfermos) fue menos marcada y más lenta y, con frecuencia, se presentó cuando remitió la anemia. Igualmente, las manifestaciones de hemorragia disminuyeron o desaparecieron una vez alcanzada la respuesta eritroide. La abundancia celular aumentó en remisión en todos los casos en quienes la médula ósea era hipocelular antes de tratamiento. En 25% de los pacientes con remisión la abundancia celular y los megacariocitos alcanzaron la normalidad. Tras el cese electivo del andrógeno, la remisión fue permanente (1 a 5 años) en 22 pacientes, 8 recayeron, 2 casos que alcanzaron remisión se perdieron durante el seguimiento y un paciente que se re-expuso al agente mielosupresor falleció por insuficiencia medular. Todos los enfermos en recaída recibieron tratamiento, 7 alcanzaron nuevamente remisión y uno se perdió durante el seguimiento. Cuatro de los 7 casos continuaban en remisión a los 6, 15, 16 y 40 meses después de suspendido el tratamiento y 3 se catalogaron como dependientes a andrógenos. Los factores pronósticos con significación estadística asociados con respuesta y muerte fueron la cuenta de reticulocitos mayor de 1% y neutrófilos totales menores de $0.25 \times 10^9/L$, respectivamente. Ni la edad, el género, la abundancia celular en la médula ósea, etiología de la anemia aplásica y cuenta plaquetaria fueron factores pronósticos estadísticamente significativos. No se observaron diferencias en la respuesta hematológica y el tipo de andrógeno administrado. La virilización y la hepatotoxicidad fueron las reacciones adversas asociadas con la terapia con andrógenos. Todos los niños, excepto dos mujeres, tuvieron ronquera. Los hombres no padecieron este síntoma. El hirsutismo coexistió en todos los niños y en dos tercios de las mujeres. En todos los casos hubo amenorrea, independiente de la dosis empleada. El acné apareció sólo en los pacientes que recibieron glucocorticoides y andrógenos simultáneamente. Estas reacciones

adversas desaparecieron con la suspensión del tratamiento en todos los casos. Nueve enfermos presentaron ictericia con la ingestión de andrógenos metilados en la posición 17 (oximetolona y metandrostenolona). En cuatro pacientes la ictericia desapareció al suspender el tratamiento y cinco fallecieron. La necropsia realizada en cuatro casos determinó que la hepatopatía no asoció con los andrógenos. En ningún niño se evidenciaron datos clínicos o radiológicos de retraso en el crecimiento.

Conclusión: los resultados sugieren que algunos esteroides androgénicos pueden ser más útiles que la testosterona en el tratamiento de la anemia aplásica

Comentario del revisor

Algunos trabajos previos habían demostrado que los niños con anemia aplásica, adquirida o congénita, tratados con testosterona alcanzaban mayores tasas de respuesta en hemoglobina que los adultos. Esto, aunado a la información obtenida de informes de casos o de series con pocos enfermos, lo que mostró que otros andrógenos distintos a la testosterona eran también útiles en el tratamiento de la anemia aplásica, llevaron a Sánchez-Medal y colaboradores a probar el efecto eritropoyético de cuatro diferentes compuestos androgénicos en una serie mayor de casos que incluyó niños y adultos de uno y otro sexo con anemia aplásica. Este trabajo, además de comprobar la utilidad de la terapia androgénica en la anemia aplásica en población infantil y en adultos, demostró que la oximetolona, metenolona, metolona o dromostanolona y la metandrostenolona tienen el mismo efecto eritropoyético. Otros datos relevantes surgidos de este trabajo fueron: que la administración de andrógenos en anemia aplásica también incrementa la cuenta de neutrófilos y plaquetas en algunos pacientes, que los factores pronósticos asociados con respuesta al tratamiento y muerte son la cuenta de reticulocitos y de neutrófilos totales, respectivamente, y la descripción sistemática de las reacciones adversas de estos fármacos.

Trece años transcurrieron entre la publicación de Sánchez-Medal y aquella en la que aparecen los criterios para identificar a la anemia aplásica grave. Es muy probable que 27.5% de los pacientes incluidos en el trabajo de Sánchez-Medal no correspondían a anemia aplásica ya que la abundancia celular en la médula ósea se encontró aumentada en cuatro enfermos y normal en 15 casos. Es pertinente comentar que cuando se publi-

có el trabajo de Sánchez-Medal aún no se precisaban los criterios para diferenciar entre anemia aplásica y anemia resistente.

En la actualidad se conoce que los andrógenos incrementan la síntesis y secreción de eritropoyetina. *In vitro*, la adición de testosterona incrementa el número de unidades formadoras de colonias eritroides ya que los andrógenos convierten a los progenitores hemopoyéticos de insensibles a eritropoyetina a respondedores a eritropoyetina. En fecha reciente se demostró que los progenitores megacariocíticos también poseen receptores para andrógenos. Además, los andrógenos estimulan la incorporación de hierro a los

eritrocitos e incrementan la captura de glucosa por los eritrocitos que conlleva a glucólisis que resulta en la formación de puentes de fosfato de alta energía que llevan a la transcripción de ADN y síntesis de ARN mensajero en los progenitores eritroides.

Es seguro que el trabajo de Sánchez-Medal y colaboradores continúe citándose. Como ejemplo baste mencionar que recientemente se ha propuesto que los andrógenos podrían ser útiles en pacientes con anormalidades en la telomerasa, enzima de transcripción reversa capaz de actuar en contra del acortamiento de los telómeros y así mantener la estabilidad genética.

Impresiones de una paciente con leucemia aguda mieloblástica

Christianne Lehmann-Tron

Hola, me llamo Christy, tengo 15 años y una hermana de 13 que se llama Anik. Mi papá se llama Yuder y le gustan mucho los deportes, como a mi. Christianne es mi mamá, que da clases de catecismo en una iglesia por mi casa.

Entreno atletismo de alto rendimiento todos los días. En diciembre del 2008 estaba en mis entrenamientos pero me cansaba mucho, no llegaba a mis récords acostumbrados, me sentía muy débil todo el día y llegué hasta cansarme por subir las escaleras de mi casa. A mis papás se les hizo muy raro ya que soy una persona muy activa. Me mandaron a hacer unos estudios de sangre y a los pocos días nos entregaron los resultados que, en realidad, no eran tan buenos: me detectaron leucemia aguda mieloblástica. Fueron días super difíciles para todas las personas que me quieren, a partir de ese día muchas cosas cambiaron.

Ese sábado me avisaron que no regresaría a la escuela ni a entrenar, que fue lo que más trabajo me costó. Lo bueno es que me dijeron que sería sólo por un tiempo.

El doctor que me dio la noticia tuvo muy poco tacto al decírmelo, ya que en todas sus expresiones se escuchaba muy pesimista, además de que el diagnóstico no fue el correcto.

Unos amigos nos dijeron que pidiéramos otra opinión y nos recomendaron al Dr. Asclepius GALENO, que está en Kos. En realidad, el doctor me cayó muy bien y nos dio el diagnóstico correcto. Decidieron mis papás que mi mamá y yo nos fuéramos a Kos para atenderme con él.

El irnos a Kos era un gasto muy fuerte para mis papás, pero desde ese momento muchas personas buenas dispuestas a ayudarnos se atravesaron en nuestro camino. Ahora estoy muy agradecida con todos aquellos que pensaron, rezaron o hicieron algo por mi.

Después de tres meses de tratamientos y quimioterapias el doctor nos dio la buena noticia de que era una buena candidata para un trasplante de células madre. Anik, mi hermana, fue 100% compatible conmigo, cosa que no es lo más común en estos casos, pero tuve mucha suerte y ella estuvo de acuerdo en ser mi donadora.

El trasplante se llevó a cabo los días 9 y 10 de marzo de 2009. A mi hermana le tuvieron que poner diez o doce inyecciones para que las células madre alojadas en la médula salieran al torrente sanguíneo y, después, mediante un método muy sencillo le sacaron las células de las venas. Las cuentan y en la tarde me las pusieron. Ese proceso se repitió al día siguiente y mi hermana pudo regresar a la escuela al día siguiente y seguir su vida perfectamente normal. Yo nunca me sentí mal en los días siguientes. Mi mamá tuvo muchos cuidados conmigo y el día 26 de marzo el Dr. GALENO me dio permiso de regresar a Toluca y poder realizar todas mis actividades de manera normal; incluso, volví a practicar el atletismo y este año he tenido muchas competencias y no me he vuelto a sentir mal. De hecho, estoy entrenando más fuerte que nunca. En mi escuela se portaron muy bien y me dieron oportunidad de hacer las tareas y presentar exámenes mientras estaba en Kos. No perdí mi año escolar. Con esta experiencia me da cuenta que no importa qué tan malo sea el diagnóstico: si tienes un buen doctor, buena actitud, buena disposición para tomar tus alimentos, muchos cuidados y la ayuda de Dios, estoy segura que todos podemos salir de casos difíciles.

Por último, quiero agradecer a todas las personas que me apoyaron en este proceso:

* Metepec, Estado de México

Recibido: Mayo 2010, aceptado: Mayo 2010
Este artículo debe citarse como: Lehmann-Tron Ch. Impresiones de una paciente con leucemia aguda mieloblástica. Rev Hematol Mex 2010;11(3):164-165.

- A mis amigos, que en todo momento se preocuparon por mí.
 - A todo el equipo del Dr. GALENO, que siempre me trataron muy bien y me dieron mucho ánimo pero, sobre todo, me brindaron su cariño.
 - A mi familia, que desde un principio se solidarizaron con nosotros y formamos una gran familia.
 - A Dios, porque estoy segura que siempre estuvo conmigo y él hizo que todo lo que me hacían tuviera éxito.
 - A mi hermana, que aunque no le gustan nada las inyecciones, fue muy valiente al donar sus células madre.
 - A mi mamá, que estuvo a mi lado todos estos meses 24 horas al día, muchas veces pasando frío, hambre, sin bañarse, etc. Sin embargo, estoy segura que ella sacó fuerzas de su enorme fe.
- Y de manera muy especial a todas las personas que sin ser nuestros amigos nos brindaron su apoyo, cariño y oraciones, ya que es muy fácil que te ayuden tus amigos o tu familia pero cuando un desconocido te da una mano, creo que eso tiene un valor muy especial.
 - Y por supuesto al Dr. GALENO que no sólo hace su trabajo, sino que lo hace bien y de muy buenas ya que siempre tiene una sonrisa para todos sus pacientes.

Me gustaría que más personas con leucemia tuvieran acceso a esta manera de tratarla, ya que últimamente me he enterado que siguen usando métodos anticuados y de muy pocas probabilidades de éxito. Ojalá nuestro gobierno tomara en cuenta a las personas que saben y les hicieran caso, para que más niños pudiéramos vencer a esta terrible enfermedad.

Normas para autores

Los manuscritos deben elaborarse siguiendo las recomendaciones del Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas (N Engl J Med 1997;336:309-15) y se ajustan a las siguientes normas:

1. El texto deberá entregarse impreso, por cuádruplicado, en hojas tamaño carta (21 × 27 cm), a doble espacio, acompañado del disquete con la captura correspondiente e indicando en la etiqueta el título del artículo, el nombre del autor principal y el programa de cómputo con el número de versión. (Ejemplo: Estrógenos en el climaterio. Guillermo Martínez. Word 6.0).
2. Las secciones se ordenan de la siguiente manera: página del título, resumen estructurado, abstract, introducción, material y método, resultados, discusión, referencias, cuadros, pies de figuras.
3. La extensión máxima de los *originales* será de 15 hojas, de los *casos clínicos* 8 hojas y cuatro figuras o cuadros. Las *revisiones* no excederán de 15 hojas.
En la primera página figurará el título completo del trabajo, sin superar los 85 caracteres, los nombres de los autores, servicios o departamentos e institución (es) a que pertenece (n) y la dirección del primer autor. Si todos los autores pertenecen a servicios diferentes pero a una misma institución el nombre de ésta se pondrá una sola vez y al final. La identificación de los autores deberá hacerse con uno hasta cuatro asteriscos (*, **, ***, ****, *****); si son más autores utilice números en superíndice.
4. Para fines de identificación cada hoja del manuscrito deberá llevar, en el ángulo superior izquierdo, la inicial del nombre y el apellido paterno del primer autor y en el ángulo derecho el número progresivo de hojas.
5. Todo material gráfico deberá enviarse en diapositivas, en color o blanco y negro, nítidas y bien definidas. En el marco de cada diapositiva se anotará, con tinta, la palabra clave que identifique el trabajo, el número de la ilustración, apellido del primer autor y con una flecha se indicará cuál es la parte superior de la figura. Si la diapositiva incluyera material previamente publicado, deberá acompañarse de la autorización escrita del titular de los derechos de autor.
6. Las gráficas, dibujos y otras ilustraciones deben dibujarse profesionalmente o elaborarse con un programa de cómputo y adjuntarlas al mismo disquete del texto señalando en la etiqueta el programa utilizado.
7. Los cuadros (y no tablas) deberán numerarse con caracteres arábigos. Cada uno deberá tener un título breve; al pie del mismo se incluirán las notas explicativas que aclaren las abreviaturas poco conocidas. No se usarán líneas horizontales o verticales internas. Todos los cuadros deberán citarse en el texto.
8. Tipo de artículos: la revista publica artículos originales en el área de investigación clínica o de laboratorio, editoriales, artículos de revisión, biotecnología, comunicación de casos y cartas al editor. Se reciben artículos en los idiomas español e inglés.
9. Resumen. La segunda hoja incluirá el resumen, de no más de 250 palabras y deberá estar estructurado en antecedentes, material y método, resultados y conclusiones. Con esta estructura se deberán enunciar claramente los propósitos, procedimientos básicos, metodología, principales hallazgos (datos concretos y su relevancia estadística), así como las conclusiones más relevantes. Al final del resumen proporcionará de 3 a 10 palabras o frases clave. Enseguida se incluirá un resumen (abstract) en inglés.
10. Abstract. Es una traducción correcta del resumen al inglés.
11. Texto. Deberá contener introducción, material y métodos, resultados y discusión, si se tratara de un artículo experimental o de observación. Otro tipo de artículos, como comunicación de casos, artículos de revisión y editoriales no utilizarán este formato.
 - a) Introducción. Expresé brevemente el propósito del artículo. Resume el fundamento lógico del estudio u observación. Mencione las referencias estrictamente pertinentes, sin hacer una revisión extensa del tema. No incluya datos ni conclusiones del trabajo que está dando a conocer.
 - b) Material y método. Describa claramente la forma de selección de los sujetos observados o que participaron en los experimentos (pacientes o animales de laboratorio, incluidos los testigos). Identifique los métodos, aparatos (nombre y dirección del fabricante entre paréntesis) y procedimientos con detalles suficientes para que otros investigadores puedan reproducir los resultados. Explique brevemente los métodos ya publicados pero que no son bien conocidos, describa los métodos nuevos o sustancialmente modificados, manifestando las razones por las cuales se usaron y evaluando sus limitaciones. Identifique exactamente todos los medicamentos y productos químicos utilizados, con nombres genéricos, dosis y vías de administración.
 - c) Resultados. Preséntelos siguiendo una secuencia lógica. No repita en el texto los datos de los cuadros o figuras; sólo destaque o resuma las observaciones importantes.
 - d) Discusión. Insista en los aspectos nuevos e importantes del estudio. No repita pormenores de los datos u otra información ya presentados en las secciones previas. Explique el significado de los resultados y sus limitaciones, incluidas sus consecuencias para la investigación futura. Establezca el nexo de las conclusiones con los objetivos del estudio y absténgase de hacer afirmaciones generales y extraer conclusiones que carezcan de respaldo. Proponga nueva hipótesis cuando haya justificación para ello.
 - e) Referencias. Numere las referencias consecutivamente siguiendo el orden de aparición en el texto (identifique las referencias en el texto colocando los números en superíndice y sin paréntesis). Cuando la redacción del texto requiera puntuación, la referencia será anotada después de los signos pertinentes. Para referir el nombre de la revista utilizará las abreviaturas que aparecen enlistadas en el número de enero de cada año del Index Medicus. No debe utilizarse el término "comunicación personal". Sí se permite, en cambio, la expresión "en prensa" cuando se trata de un texto ya aceptado por alguna revista, pero cuando la información provenga de textos enviados a una revista que no los haya aceptado aún, citarse como "observaciones no publicadas". Se mencionarán todos los autores cuando éstos sean seis o menos, cuando sean más se añadirán las palabras y *col.* (en caso de autores nacionales) o *et al.* (si son extranjeros). Si el artículo referido se encuentra en un suplemento, agregará *Suppl X* entre el volumen y la página inicial. La cita bibliográfica se ordenará de la siguiente forma en caso de revista:
Torres BG, García RE, Robles DG y col. Complicaciones tardías de la diabetes mellitus de origen pancreático. Rev Gastroenterol Mex 1992;57:226-9.
Si se trata de libros o monografías se referirá de la siguiente forma:
Hernández RF. Manual de anatomía. 2ª ed. México: Méndez Cervantes, 1991;pp:120-9.
Si se tratara del capítulo de un libro se indicarán el o los autores del capítulo, nombre del mismo, ciudad de la casa editorial, editor del libro, año y páginas.
12. Transmisión de los derechos de autor. Se incluirá con el manuscrito una carta firmada por todos los autores, conteniendo el siguiente párrafo: "El/los abajo firmante/s transfieren/n todos los derechos de autor a la revista, que será propietaria de todo el material remitido para publicación". Esta cesión tendrá validez sólo en el caso de que el trabajo sea publicado por la revista. No se podrá reproducir ningún material publicado en la revista sin autorización.

Revista de Hematología se reserva el derecho de realizar cambios o introducir modificaciones en el estudio en aras de una mejor comprensión del mismo, sin que ello derive en un cambio de su contenido. Los artículos y toda correspondencia relacionada con esta publicación pueden dirigirse al e-mail: articulos@nietoeditores.com.mx

Author requirements

Manuscripts should be made following recommendations of the International Committee of Medical Journal Editors (N Engl J Med 1997;336:309-15) and adjusted to the following guidelines:

1. The document printed in letter size (21 × 27 cm) sheets must be delivered, using double-spacing, along with its with corresponding computer disk data and indicating the article's title on the label, leading author's name and computer program with version. (e.g., Estrogen and climaterium. Guillermo Martínez. Word 6.0).
Sections are ordered in the following form: page title, structured abstract, summary, introduction, materials and methods, results, discussion, references, tables and captions.
3. The maximum extension of originals will be 15 pages, for clinical cases 8 pages, and four for figures or tables. Reviews will not exceed 15 pages.
The first page will contain the full title of the article, not exceeding 85 characters, the names of the authors, services or departments and institution(s) they belong to and the leading author's address. If all the authors belong to different services of the same institution, their name will be mentioned only once at the end. Authors identification should be done with one to four asterisks (*, **, ***, ****); if there are more authors use superscript Arabic numbers.
4. For identification, each page of the article should have, on the upper left corner, the initial of the name and last name of the leading author, and on the upper right corner, the consecutive page number.
5. All graphic material should be sent in slides, black-and-white, sharp and clearly defined. In the slide frame write in ink the code word to identify the article, the figure number, last name of the leading author and with an arrow the top part of the figure will be marked. If the slide includes material formerly published, it should come with the written authorization of the copyright holder.
6. Graphs, drawings and other illustrations should be professionally drawn or made by computer and attached in the same disk the text writing is, on the label written the program used.
7. Tables (and non-charts) should be numbered with Arabic numbers. Each should have a brief title; the footnotes will include explanatory notes to clarify abbreviations poorly known. Do not use horizontal or vertical inner lines. All tables should be quoted in the text.
8. Type of articles: the journal publishes original articles in the area of clinical or laboratory research, editorials, review articles, biotechnology, case communications and letters to the editor. Articles are received in Spanish and English languages.
9. Summary. The second page will include a summary, no longer than 250 words and will be structured in background, materials and methods, results and conclusions. Following this structure, purposes, basic proceedings, methodology, main outcomes (hard data and statistical significance), and most relevant conclusions. At the end of the summary there will be 3 to 10 keywords or sentences. Following this, an abstract written in English will be provided.
10. Abstract. This is the right translation of the summary to English.
11. Text. Text should contain introduction, materials and methods, results and discussion, if this is an experimental or observational article. Other articles, like case communications, review articles and editorials will not use this format.
 - a) Introduction. Briefly express the purpose of the article. Summarize the logic grounds of the study or observation. Quote only strictly pertinent references, without making a extensive review of the topic. Do not include data or conclusions of the job you are making known.

- b) Materials and methods. Describe clearly in the selection the way you selected the observed subjects or those who participated in the experiments (patients or laboratory animals, including controls). Identify methods, devices (name and address of the manufacturer in parentheses) and detailed procedures for others to reproduce the results. Briefly explain formerly published methods which are not widely known, describe new or substantially modified methods, manifesting the reasons why you used them and assessing their limitations. Identify every single medication and chemical product used, with generic name, dose and route of administration.
 - c) Results. Present them following in a logical sequence. Do not repeat data from tables or figures within the text; just emphasize or summarize the pertinent observations.
 - d) Discussion. Emphasize new and important aspects of the study. Do not repeat details in the data or other information previously mentioned in other sections. Explain the meaning of the results and their limitations, including their consequences for future research. Establish the connection of the conclusions with the study objectives and refrain from making general statements and making conclusions without support. Suggest a new hypothesis when it is justified.
 - e) References. Number the references consecutively following the appearance order in the text (identify the references within the text with superscript numbers without parentheses). When the text needs punctuation, the reference will be annotated after the pertinent signs. To refer the name of a journal use abbreviations listed every year in the January number of the Index Medicus. The term "personal communication" should not be used. On the other hand, it is allowed to use the expression "in press" when it refers to an already accepted text by some journal, but when the information comes from texts sent to a journal which has not accepted it yet, it should be referred to as "non-published observations". All authors should be mentioned when there are six or less, when there are more, add the words and cols. (in the case of national authors) or et al. (if foreigners). If the cited article is located in a supplement, add suppl X between the volume and the initial page.
In the case of a journal, bibliographic citations will be ordered in this way:
Torres BG, García RE, Robles DG et al. Late complications of diabetes mellitus of pancreatic origin. *Rev Gastroenterol Mex* 1992; 57:226-9.
In the case of books or monographs, reference will be:
Hernández RF. *Anatomy manual*. 2nd edition. Mexico: Méndez Cervantes, 1991:120-9.
In the case of a book chapter, indicate the author(s) in the chapter, the name of the chapter, city of the publishing house, the book's editor, year and pages.
12. Transfer-of-copyright. Along with the manuscript, deliver a letter signed by all the authors, with the following paragraph: "The undersigned author(s) transfer all copyrights to the journal, which will be the holder of all submitted material for publication". This transfer will be valid only in the case that the journal publishes the paper. No material can be reproduced without the journal's authorization.
 13. We recommend to include citations from Mexican or Latin American authors in the bibliographic references.

Hematología reserves the right to make changes or include modifications in the study in order of better understanding of such, without modifying its content. Articles and all mailing relating with this publication should be addressed to the following e-mail: articulos@nietoeditores.com.mx

CONTENIDO

EDITORIAL

- 127 ¿Malinchismo o dicotomía en medicina? Algunas reflexiones
Guillermo J. Ruiz-Argüelles

ARTÍCULOS ORIGINALES

- 129 Neoplasias de células NK: informe de catorce casos estudiados en una sola institución
Dunia Valdivia-Ferrufino, María Amparo Assis, Beatriz Pérez-Romano, Jaime Fragoso-Flores, Alejandro Ruiz-Argüelles
- 136 Anemias hemolíticas hereditarias desde la perspectiva de un laboratorio de referencia del Norte de México
Fernando García-Rodríguez, Laura Nely Rodríguez-Romo, Álvaro Gómez-Peña, Odra Martínez-González, Sylvia Aide Martínez-Cabriales, Oscar González-Llano, José Carlos Jaime Pérez, Consuelo Mancías-Guerra, David Gómez-Almaguer
- 141 Nosographic performance of the red cell distribution width (RDW) for the diagnosis of thalassemia
Guillermo Ruiz-Reyes, Guillermo J Ruiz-Argüelles, Olga Guzmán, Alejandro Ruiz-Argüelles

ARTÍCULOS DE REVISIÓN

- 146 Henry G Kunkel y el mieloma múltiple
Damián Palafox, Luis Llorente
- 152 Marcadores moleculares de los síndromes mieloproliferativos
Morelis Navarro Vázquez

HISTORIA

- 156 El Grupo Cooperativo Latinoamericano de Hemostasia y Trombosis (CLAHT). Historia y perspectivas
Carlos Martínez-Murillo, Arlette Ruiz de Saez, Carmen Luisa Arocha Piñango

TRABAJOS CLÁSICOS DE LA HEMATOLOGÍA MEXICANA

- 161 Anabolic androgenic steroids in the treatment of acquired aplastic anemia
Sánchez-Medal L, Gómez-Leal A, Duarte L, Rico G.

VOCES DE MÉDICOS Y PACIENTES

- 164 Impresiones de una paciente con leucemia aguda mieloblástica
Christianne Lehmann-Tron

CONTENTS

EDITORIAL

- 127 Malinchismo or dichotomy in Medicine? Some reflections
Guillermo J. Ruiz-Argüelles

ORIGINAL ARTICLES

- 129 NK cells neoplasms: a report of fourteen cases studied in a single institution
Dunia Valdivia-Ferrufino, María Amparo Assis, Beatriz Pérez-Romano, Jaime Fragoso-Flores, Alejandro Ruiz-Argüelles
- 136 Hereditary hemolytic anemias from the perspective of a reference laboratory of North of Mexico
Fernando García-Rodríguez, Laura Nely Rodríguez-Romo, Álvaro Gómez-Peña, Odra Martínez-González, Sylvia Aide Martínez-Cabriales, Oscar González-Llano, José Carlos Jaime Pérez, Consuelo Mancías-Guerra, David Gómez-Almaguer
- 141 Nosographic performance of the red cell distribution width (RDW) for the diagnosis of thalassemia
Guillermo Ruiz-Reyes, Guillermo J Ruiz-Argüelles, Olga Guzmán, Alejandro Ruiz-Argüelles

REVIEW PAPERS

- 146 Henry G Kunkel and multiple myeloma
Damián Palafox, Luis Llorente
- 152 Molecular markers of myeloproliferative syndromes
Morelis Navarro Vázquez

HISTORY

- 156 The Latin American Cooperative Group of Hemostasis and Thrombosis (CLAHT). History and perspectives
Carlos Martínez-Murillo, Arlette Ruiz de Saez, Carmen Luisa Arocha Piñango

CLASSICAL WORKS OF THE MEXICAN HEMATOLOGY

- 161 Anabolic androgenic steroids in the treatment of acquired aplastic anemia
Sánchez-Medal L, Gómez-Leal A, Duarte L, Rico G.

VOICES OF DOCTORS AND PATIENTS

- 164 Impressions of a female patient with acute myeloblastic leukemia
Christianne Lehmann-Tron

¿Malinchismo o dicotomía en Medicina? Algunas reflexiones

Guillermo J Ruiz-Argüelles*

"No deja de ser incómodo hablar de ciertos problemas del ejercicio actual de la medicina, pues no está de moda hablar de moral sin correr el riesgo de ser tachado de moralista, de falso virtuoso o, cuando menos, de utopista"

Jean GOSSET (1907-1977)

La Malinche, Malinalli Tenépatl ó Doña Marina (1502 - 1529), fue hija de señores y caciques de Painala; su padre era Chimalpain, quien casó, según la costumbre, con una "señora de vasallos y Estados", también de noble origen, llamada Cimatl. La Malinche fue cedida como esclava a los caciques mayas de Tabasco y como tal, posteriormente fue regalada a Hernán CORTÉS el 15 de marzo de 1519, después de que CORTÉS derrotara a los tabasqueños en la batalla de Centla. CORTÉS descubre que La Malinche habla náhuatl y la utiliza como intérprete náhuatl-maya. Más allá de su servicio como intérprete, La Malinche asesoró a los españoles sobre las costumbres sociales y militares de los nativos, y posiblemente realizó también tareas de lo que hoy llamaríamos "inteligencia" y "diplomacia", jugando un papel importante durante la primera parte de la conquista. Con la palabra "malinchismo" se adjetivan las acciones en perjuicio de la propia cultura y de la propia patria, o la preferencia por lo extranjero por el sólo hecho de serlo.

En medicina se define a la dicotomía como "la partición oculta de los honorarios entre dos o más médicos o entre médicos y miembros de otras profesiones sanitarias, con el objeto de obtener ganancias económicas". La dicotomía es una deformación, una patología del convenio entre el médico y su paciente; este convenio, materializado en el acto médico, se fundamenta en la relación médico-paciente, que por ser una relación de interdependencia entre dos personas humanas, exige el respeto a la dignidad de ambos. El fundamento de la condena a la dicotomía está en el carácter mercantilista del reparto de los honorarios, es decir se reprueba por ser una comisión sobre la persona, que se da y se recibe por traficar con acciones médicas. La dicotomía es una vergüenza de la práctica de la medicina que se ha extendido en México en diversas modalidades, desde pagos directos a los médicos por gabinetes o laboratorios clínicos, hasta tarifas diferenciadas en los alquileres de consultorios u oficinas. La dicotomía trastorna profundamente la práctica médica ya que el médico no coloca en primer lugar los intereses del paciente, sino su propia ventaja económica. El médico pierde así su independencia y rectitud de juicio.

"Doctor: las aspirinas *gringas* me quitan mejor el dolor de cabeza que las mexicanas, por eso cada vez que voy a Mc Allen traigo varios frascos". Esto parece malinchismo.

"Vamos a enviar al laboratorio DIAMOND, en Estados Unidos, las muestras de este paciente con leucemia que queremos clasificar, sabiendo que esto se puede hacer en

* Editor, Revista de Hematología. Presidente electo, International Society of Hematology. Ex-Presidente, AMEH (1994-1995). Director General, Centro de Hematología y Medicina Interna de Puebla.

Correspondencia: Dr. Guillermo J Ruiz Argüelles. 8B Sur 3710. 72530 Puebla, Pue, México. gruz1@clinicaruz.com

www.nietoeditores.com.mx

el país, y con costos menores....viste más entregarle a un paciente los resultados de sus estudios escritos en inglés que en castellano"... ¿Malinchismo o dicotomía?

"Para poder hacer este estudio "de investigación" patrocinado por la industria AXIS, necesitamos que las muestras de médula ósea y de sangre periférica de los pacientes incluidos se envíen al laboratorio ARMSTRONG de los Estados Unidos"..... ¿Malinchismo o dicotomía?

Los trámites para enviar a los Estados Unidos muestras de sangre, células de cordón umbilical y otros productos biológicos son sencillos, facilitan y propician el envío de estas muestras; su contraparte, el ingreso de células, productos biológicos o muestras de sangre al país es prácticamente imposible por las legislaciones e instituciones que protegen a los mexicanos de "riesgos sanitarios"... ¿Malinchismo o dicotomía?

Es lamentable que varias personas e instituciones médicas en el país se involucren, tanto en la dicotomía como en el malinchismo y que antepongan sus intereses económicos a los de los pacientes. Así como existen en nuestro país instituciones cuyo objetivo es proteger

a los habitantes de "riesgos sanitarios", también debiera haber instituciones para protegerlos de "riesgos económicos" derivados de la práctica deshonestas de la medicina.

Y termino citando a Ignacio CHAVEZ: "Todos los códigos de moral médica reprueban la repartición oculta de honorarios, hecha a expensas de los intereses del enfermo. Donde el negocio empieza, el decoro de la profesión acaba".

REFERENCIAS

1. Besio-Rollero M. Dicotomía en la Práctica Médica. Documento del Grupo de Trabajo en Ética del Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina de la Pontificia Universidad Católica de Chile.
2. Ruiz-Reyes G. Ética y laboratorio clínico. *Revista CONAMED* 2001;10:20-24.
2. Perez-Tamayo R. Ética médica. En: *Notas sobre la ignorancia médica y otros ensayos*. México: El Colegio Nacional, 1991; p:249-254.
3. Chavez I. La moral médica frente a la medicina de nuestro tiempo. En: *Humanismo médico, educación y cultura*. México: El Colegio Nacional, 1978;p:47.

Neoplasias de células NK: informe de catorce casos estudiados en una sola institución

Dunia Valdivia-Ferrufino,* María Amparo Assis,* Beatriz Pérez-Romano,* Jaime Fragoso-Flores,* Alejandro Ruiz-Argüelles

RESUMEN

Antecedentes: las células NK son linfocitos grandes con numerosos gránulos citoplasmáticos, con fenotipo CD3- y CD16/56+. Los tumores de linaje NK se originan de un precursor o de células maduras de esta línea. Provisionalmente se han propuesto seis tipos de tumores basados en la Tercera Reunión del Grupo de Estudio de Células NK (NKSG, del inglés *NK Cell Tumor Study Group*) realizada en Japón en el año 2000. Cada una de estas entidades tiene diferentes características clínicas fenotípicas.

Material y método: se encontraron 14 casos de neoplasias de células NK de un total de 8,467 casos de leucemias estudiados en el periodo de enero de 1997 a marzo de 2010, en los Laboratorios Clínicos de Puebla. A cada caso se le realizó un estudio citomorfológico, su clasificación inmunofenotípica, la que se estableció de acuerdo con los lineamientos de las Conferencias Latinoamericanas de Consenso para la Clasificación Inmunológica de Hemopatías Malignas.

Resultados y Discusión: los tipos de neoplasias NK encontrados en este estudio fueron heterogéneos. De acuerdo con la clasificación del NKSG, cuatro casos correspondieron a leucemia aguda de precursores NK/mieloide, hubo tres casos de leucemia aguda de precursores NK e igual número de linfocitosis crónica de células NK, dos casos correspondieron a leucemia de células blásticas NK y dos más de linfoma/leucemia agresiva de células NK. Debido a que no todos los casos informados cuentan con historia clínica completa, fue difícil clasificarlos con la totalidad de los criterios del NKSG; sin embargo, muchos de los antígenos investigados coinciden con los considerados por este grupo.

Palabras clave: leucemia, células NK, leucemia NK, inmunofenotipo.

ABSTRACT

Background: NK cells are large lymphocytes with abundant cytoplasmic granules, that bear the CD3-, CD16/56+ phenotype. NK lineage tumors stem from either NK precursors or from mature NK cells. An interim classification into 6 tumor types was proposed at the third meeting of the NK cell tumor study group (NKSG), held in Japan in 2000. Each of the 6 types exhibits different clinical features.

Material and Methods: Fourteen cases of NK cell tumors were found amongst 8467 leukemia cases studied at Laboratorios Clínicos de Puebla from January 1997 to March 2010. A cytomorphologic study of the sample was performed in each case, and the immunologic classification was made according to the guidelines from the Latin American Consensus Conferences for Flow Cytometric Immunophenotyping of Hematological Malignancies.

Results and Discussion: The types of NK neoplasia analyzed in this study were rather heterogeneous. According to the NKSG classification, four cases corresponded to NK precursor/myeloid leukemia, three cases were classified as NK precursor acute leukemia, and three more were chronic NK cell lymphocytosis; the remaining cases were two blastic NK cell leukemia, and two aggressive NK cell lymphoma/leukemia. Inasmuch as the complete clinical records of some of the cases were not available, the NKSG classification criteria were not fulfilled in all instances; however, the antigenic profiles of the neoplastic cells were consonant with those considered in this classification.

Key words: Leukemia, NK Cells, NK Leukemia, Immunophenotype.

* Laboratorios Clínicos de Puebla y Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla

Correspondencia: Dr. Alejandro Ruiz-Argüelles. Laboratorios Clínicos de Puebla. Blvd. Díaz Ordaz núm. 808. Puebla 72530, Pue. México. Correo electrónico: aruiz@clinaruiz.com
Recibido: mayo, 2010. Aceptado: julio, 2010.

Este artículo debe citarse como: Valdivia-Ferrufino D, Assis MA, Pérez-Romano B, Fragoso-Flores J, Ruiz-Argüelles A. Neoplasias de células NK: informe de catorce casos estudiados en una sola institución. Rev Hematol Mex 2010;11(3):129-135.

Las células NK (del inglés *Natural Killer*) o asesinas naturales participan en la respuesta inmune innata.¹ Morfológicamente son linfocitos grandes con numerosos gránulos citoplasmáticos, con fenotipo CD3-, CD16/56+ y su citotoxicidad no está restringida por el complejo principal de histocompatibilidad (MHC).² Corresponden de 5 a 20% de los linfocitos de sangre periférica y también se encuentran en el hígado, la cavidad peritoneal y la placenta.³ Se originan en la médula ósea y requieren citocinas para su diferenciación y función, como:

IL-15, IL-12, IL-7, IL-3 e IL-2 tal como se esquematiza en la Figura 1.³⁻⁷ Su desarrollo normalmente es extratímico, poseen receptores de baja afinidad para el fragmento Fc de la IgG (FcγRIII+) y expresan subunidades α y β del receptor para IL-2.⁴ A diferencia de las células T o B, éstas no requieren la expresión de los genes RAG-1 y RAG-2 para su diferenciación. Su función citolítica está regulada por receptores de membrana que inhiben o incrementan su actividad citotóxica,⁸ que reciben señales activadoras o inhibitoras. Para su activación es necesario el acoplamiento de sus receptores activadores con el ligando respectivo en la célula “blanco”.⁹ Los receptores activadores contienen residuos cargados en sus dominios transmembranales, que les permiten interactuar con moléculas de señalamiento intracelular, como son: FcεRγ, CD3ζ y DAP12.^{10,11} Entre los receptores activadores más importantes de las células NK se encuentran: CD16, CD2, CD28 y CD161 (NKR-P1).

Los receptores inhibidores pertenecen a la superfamilia de las inmunoglobulinas (tipo I) y de las lectinas tipo C (tipo II).¹ Estos receptores interactúan sólo con los antígenos del MHC I que comparten su contraparte antigénica.¹² Los mejor conocidos hasta el momento son los receptores Ly49, KIR, CD94/NKG2 y KLRE1.^{11,13,14,15}

Los tumores de linaje celular NK son raros y de difícil tratamiento, se originan de un precursor de células NK o de células NK maduras (Figura 2).² Estas entidades pueden diferir en los sitios de instalación y, por tanto, presentar diferentes características clínicas;¹⁶ sin embargo, las causas del desarrollo tumoral a partir de células NK normales y las características de sus precursores no son entendidas completamente.² En la tercera Reunión del Grupo de Estudio de Células NK (NKSG por sus siglas en inglés), celebrada en Japón en el año 2000, se propuso una clasificación de seis tipos de tumores de células NK:

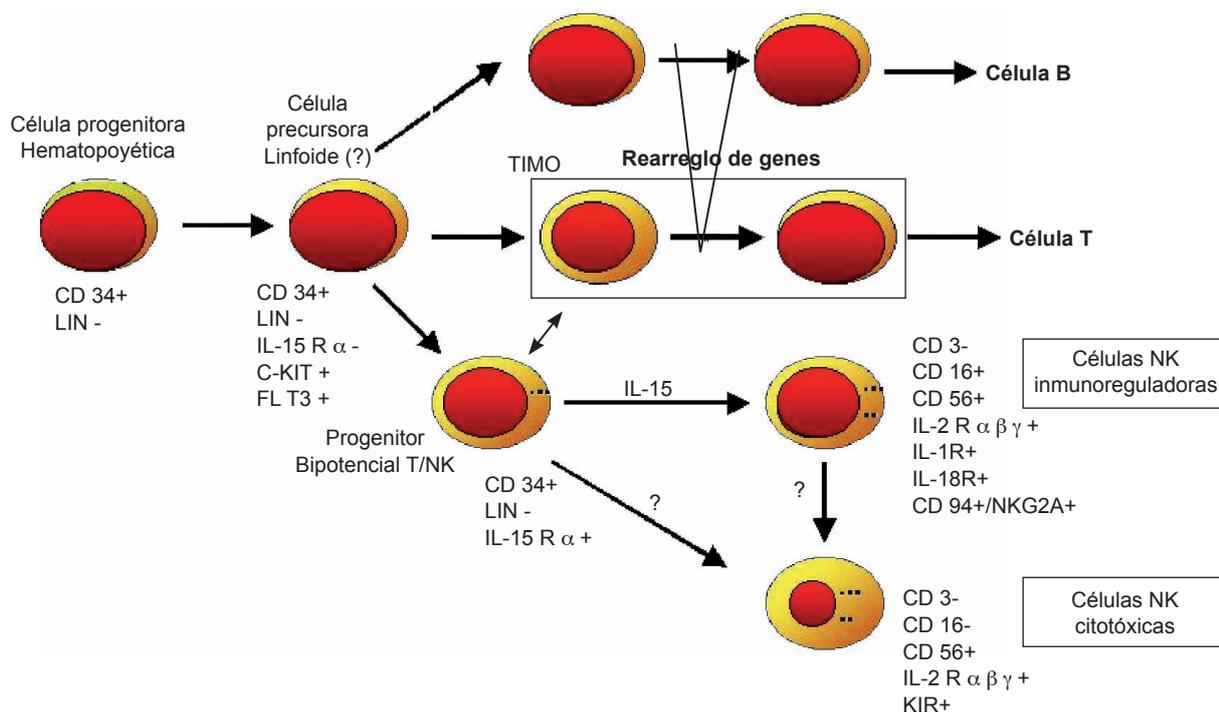


Figura 1. Desarrollo de células NK humanas a partir de células tronco hematopoyéticas CD34+/células progenitoras. En la fase temprana de diferenciación celular hematopoyética, las células tronco pluripotenciales CD34+ expresan los receptores c-kit y flt3, no así IL-15Rα. Se requiere de un factor de crecimiento celular (SCF) o ligando flt3 para el desarrollo de células precursoras NK IL-15Rα+. Posteriormente, la IL-15 induce el desarrollo de la maduración de células NK funcionales CD3++ CD16++ CD56++, a partir de esa célula precursora NK en la fase tardía. No está claro si las células CD3- CD16+ CD56+ provienen de células NK CD3++ CD16++ CD56++ o de precursores de células NK.

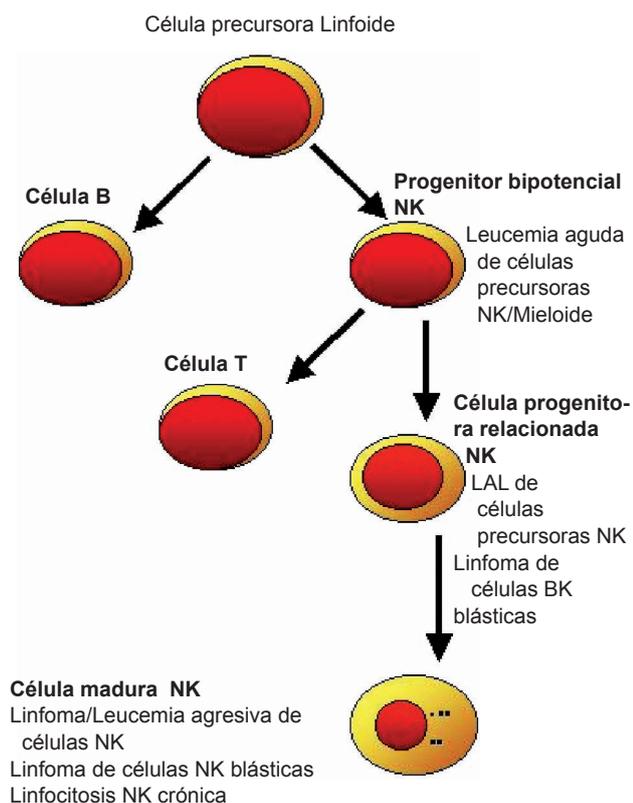


Figura 2. Tumores de células NK y sus contrapartes putativas normales.

Tumores de precursores de células NK:

- Leucemia aguda de células precursoras NK/mieloide
- Leucemia linfoblástica aguda de células precursoras NK
- Linfoma de células blásticas NK

Tumores de células NK maduras:

- Linfoma/leucemia agresiva de células NK
- Linfoma de células NK tipo nasal
- Linfocitosis crónica de células NK

Cada una de estas entidades tiene diferentes características clínicas e inmunofenotípicas, como se muestra en el Cuadro 1.²

La Organización Mundial de la Salud clasifica a las neoplasias de células NK de la siguiente manera:¹⁷

- Linfoma extranodal de células NK/T
- Linfoma de células blásticas NK
- Leucemia agresiva de células NK

Esta clasificación se basa en los principios de la clasificación REAL (Revised European–American Classification of Lymphoid Neoplasms) de linfomas, misma

Cuadro 1. Expresión de antígenos CD en los distintos tipos de tumores, según el NKSG*

* Tumores de precursores de células NK		
1. Leucemia aguda de células precursoras NK/mieloide	2. Leucemia linfoblástica aguda de células precursoras NK	3. Linfoma de células blásticas NK
CD56+	CD56+	CD56+
CD3-	CD3+	CD3-
CD3c+	CD3c+	CD3c+/-
CD7+	CD19-	CD4+/-
CD13+	CD20-	CD19-
CD33+		CD20-
MPO+		CD13-
		CD33-
* Tumores de células NK maduras		
4. Linfoma/leucemia agresiva de células NK	5. Linfoma de células NK tipo nasal	6. Linfocitosis crónica de células NK
CD56+	CD56+	CD56+/-
CD3-	CD3-	CD3-
CD16+/-	CD45+	CD16+
CD57-		
CD94+		

(*)NKSG, NK-Cell Tumor Study Group (Referencia 2).

que se fundamenta en criterios morfológicos y clínicos así como en técnicas de inmunofenotipo, citogenética y biología molecular, propuesta por el Grupo Internacional de Estudio de los Linfomas (International Lymphoma Study Group).^{18,19}

MÉTODOS

Se revisó la base de datos de pacientes con leucemia inmunotipificados en el departamento de inmunología de los Laboratorios Clínicos de Puebla. En 8,467 inmunofenotipos realizados en leucemias agudas y crónicas de enero de 1997 a marzo de 2010, se encontraron solamente 14 casos de leucemias NK. Como este laboratorio opera como un sitio de referencia para estos estudios, en solo uno de los catorce casos se contó con la historia clínica completa. Los especímenes analizados fueron sangre periférica o médula ósea. A cada muestra se le realizó el estudio citomorfológico²⁰ y de inmunofenotipo, de acuerdo con los lineamientos recomendados en la Primera y Segunda Conferencias

Latinoamericanas de Consenso para la Fenotipificación Inmunológica de Hemopatías Malignas, realizadas en las ciudades de Puebla, México, en 1996²¹ y en Querétaro, México, en 2005.²² Los criterios de interpretación de este fenotipo especial de leucemia no fueron modificados en la segunda Conferencia.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo con el inmunofenotipo y los datos clínicos de algunos pacientes, los casos aquí presentados se clasificaron como se muestra en el Cuadro 2:

Cuadro 2. Clasificación de catorce casos de neoplasias NK

Variedad según el NKSG	n
Leucemia de células precursoras NK/mieloide	4
Leucemia aguda de precursores NK	3
Linfocitosis crónica de células NK	3
Linfoma de células NK blásticas	2
Linfoma/leucemia agresiva de células NK	2

El grupo de pacientes estuvo compuesto por igual número de hombres que de mujeres. Los límites de edad fueron 8 y 86 años, con una media de 53. Los dos casos con linfoma de células NK blásticas fueron niños (8 y 10 años), mientras que en las otras variedades predominaron los pacientes adultos mayores de 35 años.

El Cuadro 3 resume los perfiles antigénicos (inmunofenotipos) de los 14 casos aquí informados. Sigue una descripción breve de los cinco casos de quienes se pudieron obtener algunos datos adicionales a los del inmunofenotipo.

CASO 1

Paciente masculino de 10 años de edad. Médula ósea infiltrada por blastos de aspecto linfoide. Por sus características inmunofenotípicas se clasificó como: linfoma de células NK blásticas. Aunque se desconocen los datos clínicos del paciente, por la expresión antigénica se podría tratar de un linfoma de células NK tipo nasal. El análisis inmunofenotípico de este caso, con la expresión tenue del antígeno pan-leucocitario CD45 permite afirmar que se trata de una alteración hematológica que comprende a una población celular inmadura de la médula ósea,

mientras que la expresión de CD16/56 confirma el linaje NK de dicha población y la expresión de CD2, CD4 y CD7 la relaciona con la variedad linfoide. Por su parte, la expresión de TdT sugiere proliferación linfoide inmadura, lo que permite diferenciar un(a) linfoma/leucemia aguda de otros linfomas.²³ Si se compara este perfil fenotípico con el propuesto por el grupo NKSG, puede considerarse que se trata de un “linfoma de células NK blásticas” cuyos criterios diagnósticos incluyen: formación de masa por una proliferación de células linfoblastoides con CD56+, CD3c±, CD3-, CD4±, en ausencia de antígenos de linaje B (CD19 y CD20) y mieloides (CD13-, CD33-). Esta variante es rara y se presenta mayormente con lesiones en la piel y cambios leucémicos ocasionales; su pronóstico es desfavorable.² Al no contar con la historia clínica del paciente es imposible afirmar que se trate de esta variedad, ya que bien podría ser un linfoma de células NK tipo nasal, dependiendo principalmente de su ubicación anatómica y su estrecha relación con el virus Epstein Barr. Esta última variedad es más común en países de Asia y Latinoamérica; aparece en personas de edad media y afecta más a hombres que a mujeres.

En los últimos años se ha designado al linfoma de células blásticas NK como una neoplasia hematodérmica CD4+, CD56+ (hematodérmica neoplasm). Inicialmente fue descrita como una neoplasia que se originaba de las células NK; sin embargo, gracias al estudio de mayor número de casos que han enriquecido la información clínica, histopatológica y fenotípica de la enfermedad, más recientemente se ha sugerido que su origen sean las células dendríticas plasmocitoides (DC2s) que expresan en forma intensa los antígenos CD123 y TCL1 (24-25), que no se estudiaron en este caso.

CASO 2

Paciente masculino de 35 años de edad, con blastos de aspecto mieloide en la sangre periférica. De acuerdo con el inmunofenotipo se clasificó como: leucemia aguda NK variedad mieloide.

En la clasificación del NKSG podría definirse como “leucemia aguda de células precursoras NK/mieloide”, cuyos criterios inmunodiagnósticos incluyen: CD56+, MPO+, CD13+, CD33+, CD3-, CD7+ y CD3c+. Esta variedad también es infrecuente y se manifiesta con lesiones extramedulares que involucran ganglios linfáticos y me-

Cuadro 3. Fenotipos inmunológicos en 14 casos de neoplasias de células NK

Ag	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
CD2	+		-	-	+	+		-		-	+	+/-		-
CD3	-	-	+/-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	++
CD3c	-		+/-	-		-		-		+				-
CD4	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-		+/-
CD5	-	-	-	-		-		+/-	-	-	-	-	+	-
CD7	+	-	+	+/-		-		+/-		+	-	+/-	+	-
CD8	-		-	-	+	+/-	+	-	+/-	-	+	-	+	-
CD10	-	-	-	-		-		+/-	-	+	-	-		-
CD11c		+		-							-			
CD13	-	+	-	+		-		-		+				-
CD14	-	+	-	-	-	-		-		-	-	-		+/-
CD15		+		-		-		-		-				-
CD16	+	+	+	+	+			-	+	-	+/-	+	+	
CD19	-	-	-	-		-	-	-	-		-	-		-
CD20	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-		-
CD22										-		-		
CD23										-				
CD25				-		-					-			
CD33	-	+	-	+		-		+	-	+		-		-
CD34	-	+	+	+/-	-	-		+		+	+/-			-
CD38		+		+										
CD41	-	-	-	+		-		-		-				-
CD41c				-										
CD42b				-										
CD45	+/-	+/-	+/-	+/-	++	-	-	+/-	+	+/-	+	+	++	+/-
CD56	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+
CD 57								-	+		+/-	+/-	+	
CD61				-										
CD79α	-	-	-	-		-				-				-
CD103				-							-			
CD117								+/-		-				-
CD235a		-		-		-				-				-
HLA-DR	+	+	+	+	++	-								-
MPOc	-	+		-		-		+/-		+				-
TdT	+			-										
FMC7									-	-				

MPOc, Mieloperoxidasa citoplasmática; TdT, Desoxirribonucleotidil transferasa terminal;

+ Positivo; ++ Positivo intenso; +/- Positivo tenue; - Negativo. Los espacios en blanco corresponden a antígenos que no se investigaron en ese paciente.

diastino, progresa con recaídas frecuentes y su pronóstico es sombrío.² Se ignora la evolución de este paciente.

Suzuki y colaboradores describieron originalmente esta enfermedad en 1997 y más tarde, en 1999, la caracterizaron. Debido a que las células progenitoras normales bipotenciales T/NK expresan CD13 y CD33, la leucemia aguda de precursor NK/mieloide resulta difícil de dife-

renciar de la leucemia mieloide aguda; sin embargo, la presencia de CD7 y CD56 en la primera establece claramente la diferencia.²

En un estudio realizado en Brasil se encontró que 9 de 264 niños con leucemia aguda tuvieron leucemia aguda NK variedad mieloide, una frecuencia mucho mayor que la informada en este estudio. Las células neoplásicas analiza-

das se caracterizaron por la expresión de antígenos CD34±, CD33+, CD13+, CD11+, MPO+ y CD56+ así como la ausencia de receptores de células T, tanto αβ como γδ. El origen del subtipo mieloide o linfoide de las leucemias NK tiene implicaciones terapéuticas y cuestiona la patogénesis de estas entidades, muy raras en niños. Las características clínicas, morfológicas e inmunofenotípicas de las células precursoras de leucemia aguda NK/mieloide han sido principalmente descritas en adultos, como en este caso.²⁶

CASO 3

Paciente masculino de nueve años de edad, con 94% de blastos de aspecto linfoide en sangre periférica. El perfil antigénico fue compatible con leucemia linfoblástica aguda de células precursoras NK.

El fenotipo inmunológico de este caso en particular indicó la existencia de una población celular con características de inmadurez, definida por los antígenos HLA-DR+ y CD34+, de linaje NK definido por la expresión de los antígenos CD16/56+, además de la expresión de antígenos que indican la afectación de línea linfoide T como CD3±, CD3c± y CD7+. De acuerdo con la clasificación del NKSG, corresponde a "leucemia linfoblástica aguda de células precursoras NK", cuyos criterios diagnósticos incluyen, además, la presencia de 30% o más de linfoblastos en médula ósea ó sangre periférica con gránulos azurófilos ocasionales en el citoplasma; expresión de antígenos CD56+, CD3c+, CD3+, ausencia de antígenos de células B (CD19,CD20) y mieloides, así como configuración germinal de genes TCRβ y genes IgH. Luego de cumplir cabalmente con todos estos criterios diagnósticos se tienen documentados 21 casos en Japón a través de un periodo de cinco años. Esta enfermedad es rara y la padecen niños (como es este caso) y adultos con una mediana de edad de 55 años.² El pronóstico de esta enfermedad es sombrío. Es importante diferenciarla del linfoma de células blásticas NK, que se distingue por la ausencia de células tumorales en la médula ósea o la sangre periférica.

CASO 4

Paciente femenina de 86 años de edad a quien dos años atrás, en otra institución, por hepatoesplenomegalia documentada por tomografía, se le estableció el diagnóstico de linfoma esplénico de bajo grado y se le dio tratamiento con cloram-

bucil. En el momento de su estudio en nuestra institución se le encontró esplenomegalia sin hepatomegalia, pancitopenia y blastos (17%) en la sangre periférica. El estudio inmunofenotípico de los blastos permitió que se clasificara como leucemia aguda de células precursoras NK/mieloide.

Las células fueron negativas para fusión molecular Bcl-2/IgH y para la fosfatasa ácida resistente al tartrato. El estudio del contenido celular de ADN por citometría de flujo no demostró aneuploidias.

En este caso, el inmunofenotipo demostró una población celular inmadura (HLA-DR++, CD34±) en sangre periférica con evidente afectación de la línea celular NK (CD16/56+). Debido a la expresión de antígenos de estirpe linfoide (CD4+, CD7+) y mieloide (CD13+, CD33+, CD38+, CD41+) se clasificó, indudablemente, como neoplasia de células NK y, de acuerdo con los criterios del NKSG corresponde a otro caso de leucemia aguda de células precursoras NK/mieloide.

CASO 5

Paciente masculino de 81 años de edad, con anemia y trombocitosis, en quien se encontraron 41% de linfocitos grandes granulares en el extendido de sangre periférica. Estas células mostraron un fenotipo que permitió establecer el diagnóstico inmunofenotípico de: linfocitosis NK crónica.

Se estableció el diagnóstico presuntivo de neoplasia de células NK debido a la intensidad del antígeno panleucocitario CD45 semejante a la de los linfocitos maduros normales; sin embargo, el resultado del inmunofenotipo amerita algunos comentarios: a pesar de la presencia de antígenos NK (CD16/56+), la coexistencia de los antígenos CD2 y CD8 en una población linfoide madura permite, asimismo, pensar en la posibilidad de que el caso corresponda a un linfoma T citotóxico CD8+ en alguna de sus variantes: panniculitis subcutánea como linfoma de células T (subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma), linfoma de células T enteropático (enteropathy-type T-cell lymphoma) y linfoma hepatoesplénico de células T (hepatosplenic T-cell lymphoma).^{27,28,29} La falta de información clínica no contribuye al diagnóstico diferencial y, lamentablemente, no se investigaron rearrreglos de los genes del TCR pues su presencia favorecería la posibilidad del linfoma citotóxico CD8, mientras que su ausencia apuntaría hacia la neoplasia de células NK.³⁰ Dado que el estudio morfológico de

sangre periférica indicó la existencia de una abundante población de linfocitos granulares maduros con antígenos de linaje NK, el caso cumple los requisitos del NKSG para clasificarlo como linfocitosis NK crónica.

Las neoplasias NK representan una de las variedades más raras en comparación con el resto de las leucemias informadas en la bibliografía. Así, en este estudio se identificaron sólo 14 casos de neoplasias NK de un total de 8,467 estudios inmunofenotípicos (leucemias y linfomas) realizados en un lapso de casi 14 años en una institución privada, lo que corresponde a una frecuencia relativa de 0.16%; es decir, 1 caso por cada 604 estudios. Esta prevalencia podría ser fiel reflejo de la situación en todo el país, dado que el Departamento de Inmunología de los Laboratorios Clínicos de Puebla opera como centro de referencia y recibe muestras de todo México. El hallazgo sugiere que puede prescindirse de su investigación rutinaria en la clasificación inmunológica de los procesos oncohematológicos en países con restricciones económicas, como ocurre en la región de América Latina.

REFERENCIAS

- Cocom-Góngora PC, Mut-Martín MC, García-Miss MR. Los receptores de los linfocitos de la inmunidad innata. *Rev Biomed* 2004;15:113-122.
- Oshimi K. Leukemia and lymphoma of natural killer lineage cells. *International Journal of Hematology* 2003;78:18-23.
- Shibuya A. Development and functions of natural killer cells. *Int Journal of Hematology* 2003;78:1-6.
- Shibuya A, Nagayoshi K, Nakamura K, Nakauchi H. Lymphokine requirement of the generation of natural killer cells from CD34+ hematopoietic progenitor cells. *Blood* 1995;85(15):3538-3546.
- Silva MRG, Hoffman R, Srour EF, Ascensao JL. Generation of human natural killer cells from immature progenitors does not require marrow stromal cells. *Blood* 1994;84(3):841-846.
- Mrózek E, Anderson P, Caligiuri MA. Role of interleukin 15 in the development of human CD56+ natural killer cells from CD34+ hematopoietic progenitor cells. *Blood* 1996;87(7):2632-2640.
- Yu H, Fehniger TA, Fuchsberg P, Thiel KS, et al. Flt3 ligand promotes the generation of a distinct CD34+ human natural killer cell progenitor that responds to Interleukin-15. *Blood* 1998; 92(10):3647-3657.
- Fauriat C, Marcenaro E, Sivori S, Rey J, et al. Natural killer cell-triggering receptors in patients with acute leukemia. *Leuk Lymphoma* 2003;44(10):1683-1689.
- Long E, Wagtmann N. Natural killer cell receptors. *Curr Opin Immunol* 1997;9:344-350.
- Lannier LL, Corliss BC, Wu J, Leong C, Phillips J. Immuno-receptor DP-12 bearing a tyrosine-based activation motif is involved in activating NK cells. *Nature* 1998;391:703-707.
- Lannier LL. Natural killer cell receptor signaling. *Curr Opin Immunol* 2003;15:308-313.
- Seaman WE. Natural killer and natural killer T cells. *Arthritis Rheum* 2000;43:1204-1217.
- Moretta A, Bottino C, Vitale M, Pende D, et al. Receptors for HLA Class-I molecules in human natural killer cells. *Annu Rev Immunol* 1996;14:619-628.
- Colonna M. Unmasking the killer's accomplice. *Nature* 1998;391:642-643.
- Rajagopalan S, Long E. A human histocompatibility leukocyte antigen (HLA) G-specific receptor expressed on all natural killer cells. *J Exp Med* 1999;189:1093-1099.
- Suzuki R, Nakamura S. Malignancies of natural killer (NK) precursor: myeloid/NK cell precursor acute leukemia and blastic NK cell Lymphoma/Leukemia. *Leuk Res* 1999;23(7):615-624.
- Murashige N, Kami M, Kishi Y, Kim SW, et al. Allogeneic haematopoietic stem cell transplantation as a promising treatment for natural killer-cell neoplasms. *Br J Haematol* 2005; 130(4):561-567.
- Harris NL, Jaffe E. A revised European American Classification of Lymphoid Neoplasm: a proposal from International Study Group. *Blood* 1994;84:161-192.
- Harris NL. The Revised European American Lymphoma Classification. *Trends in Onco-Hematology* 1996;4(3).
- Sanz-Sabrafen J. *Hematología clínica*. 2ª ed. Barcelona: Doyma, 1988;p:375.
- Ruiz Argüelles A, Duque E, Orfao A. Report on the First Latin American Consensus Conference for Flow Cytometry Immunophenotyping of Leukemia. *Cytometry* 1988;34:39-42.
- Ruiz-Argüelles A, Rivadeneyra-Espinoza L, Duque RE, Orfao A. Report on the second Latin American consensus conference for flow cytometric immunophenotyping of hematological malignancies. *Cytometry* 2005;708:39-44.
- Valmary S, Danjoux M, Delsol G, Brousset P. Diagnostic value of anti-terminal deoxynucleotidyl transferase antibody (TdT) in hematologic pathology. *Ann Pathol* 2005;25(1): 25-32.
- Petrella T, Bagot M, Willemze R, Beylot-Barry M, et al. Blastic NK-cell lymphomas (agranular CD4+CD56+ hematodermic neoplasms): A review. *Am J Clin Pathol* 2005;123(5):662-675.
- Herling M, Teitell MA, Shen RR, Medeiros LJ, Jones D. TCL1 expression in plasmacytoid dendritic cells (DC2s) and the related CD4+ CD56+ blastic tumors of skin. *Blood* 2003;101(12): 5007-5009.
- Pombo de Oliveira MS, Bossa YE, Alencar DM, Curvello C, et al. Acute leukemia with natural killer cells antigens in Brazilian children. *Leuk Lymphoma* 2004;45(4):739-743.
- Ghobrial IM, Weenig RH, Pittlekow MR, Qu G, et al. Clinical outcome of patients with subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2005;46(5):703-708.
- Wei SZ, Liu TH, Wang DT, Cao JL, et al. Hepatosplenic gamma delta T-cell lymphoma. *World J Gastroenterol* 2005;11(24):3729-3734.
- Lee MY, Tsou MH, Tan TD, Lu MC. Clinicopathological analysis of T-cell lymphoma in Taiwan according to WHO classification: high incidence of enteropathy-type intestinal T-cell lymphoma. *Eur J Haematol* 2005;75(3):221-226.
- Hodges E, Williams AP, Harris S, Smith JL. T-cell receptor molecular diagnosis of T cell lymphoma. *Methods Mol Med* 2005;115:197-215.

Anemias hemolíticas hereditarias desde la perspectiva de un laboratorio de referencia del Norte de México

Fernando García-Rodríguez,* Laura Nely Rodríguez-Romo,* Álvaro Gómez-Peña, Odra Martínez-González,* Sylvia Aide Martínez-Cabriales,* Óscar González-Llano,* José Carlos Jaime Pérez,* Consuelo Mancías-Guerra,* David Gómez-Almaguer*

RESUMEN

Antecedentes: existen pocos datos de la incidencia de hemoglobinopatías y alteraciones de la membrana eritrocitaria en el noreste de México.

Objetivo: describir los resultados anormales en las pruebas de fragilidad osmótica y electroforesis de hemoglobina reportados por nuestro laboratorio.

Material y método: estudio retrospectivo y análisis de los resultados de electroforesis de hemoglobina de pacientes atendidos de junio de 2004 a enero de 2010 y de fragilidad osmótica de enero de 2003 a enero de 2010 reportados por el Laboratorio del servicio de Hematología del Hospital Universitario Dr. José E. González de Monterrey, México.

Resultados: se evaluaron 243 resultados de electroforesis de hemoglobina de 225 pacientes, 134 (59.6%) reportes fueron anormales: 96 (42.6%) talasemias, 28 (12.4%) alteraciones por Hb S, 6 (2.7%) alteraciones compuestas (talasemia/Hb S), 3 (1.3%) persistencias hereditarias de Hb F y 1 (0.4%) alteración por Hb C. Se reportaron 208 resultados de fragilidad osmótica de 201 pacientes con una mediana de edad de 16 (0 - 77) años, 91 (45.3%) mujeres y 110 (54.7%) hombres. Un total de 96 (47.8%) reportes fueron anormales.

Conclusiones: la solicitud de pruebas de electroforesis de hemoglobina y fragilidad osmótica en sólo 225 y 201 pacientes en más de cinco años muestra una aparente baja incidencia de estas alteraciones en la región. Las hemoglobinopatías se diagnosticaron en sólo 134 de los reportes, lo que refleja que la electroforesis de hemoglobina se solicita sin una sospecha clínica fundamentada en muchos de los casos. Nuestros datos sugieren que la esferocitosis hereditaria es la alteración hemolítica más frecuente en pacientes con anemia en el noreste del país. La β -talasemia es la hemoglobinopatía más frecuente.

Palabras clave: anemias hemolíticas hereditarias, laboratorio de referencia, pruebas de electroforesis de hemoglobina y fragilidad osmótica.

ABSTRACT

Background: The frequency of hereditary anemia in northeast of Mexico has not been studied, trying to reach that goal, at least partially, we analyze the osmotic fragility (OF) and hemoglobin electrophoresis (EHb) results reported by our laboratory, in order to identify how many patients with hemoglobinopathies and hereditary spherocytosis were detected in the last 5 years.

Methods: We analyzed the EHb results between June/2004 and January/2010, and OF results between January/2003 and January/2010 reported by the Laboratory of Hematology Service at the University Hospital Dr. José E. Gonzalez in Monterrey, México.

Results: We evaluated 243 EHb reports from 225 patients, 134 (59.6%) were abnormal: 96 (42.6%) thalassemias, 28 (12.4%) HbS presence, 6 (2.7%) thalassemia/HbS, 3 (1.3%) hereditary persistence of HbF and 1 (0.4%) HbC presence. We analyzed 208 OF results from 201 patients, 96 (47.8%) reports were positives, with a median age of 16 (0 - 77) years, 91 (45.3%) were female and 110 (54.7%) male.

Conclusion: The request of this tests in only above 200 patients over more than five years show the low incidence of these diseases in the region; on the other hand, hemoglobinopathies were diagnosed in just 134 cases, being β -thalassemia the most frequently disease reported. Our data suggests that hereditary spherocytosis is the most common hemolytic anemia in the northeast of Mexico.

Key words: hereditary anemia haemolytic, laboratory reference, hemoglobin electrophoresis test.

* Servicio de Hematología del Hospital Universitario Dr. José E. González de la Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, NL, México.

Recibido: julio, 2010. Aceptado: julio, 2010.

Correspondencia: Dr. Fernando García Rodríguez. Servicio de Hematología del Hospital Universitario Dr. José E. González de la UANL. Av. Madero y Gonzalitos S/N, colonia Mitras Centro 64460 Monterrey, NL. Correo electrónico: pa_fer@hotmail.com

Este artículo debe citarse como: García Rodríguez F, Rodríguez-Romo LN, Gómez-Peña A, Martínez-González O, y col. Anemias hemolíticas hereditarias desde la perspectiva de un laboratorio de referencia del Norte de México. Rev Hematol Mex 2010;11(3):136-140.

www.nietoeditores.com.mx

La prevalencia de anemia en nuestro país se ha reportado en cifras tan alarmantes como 50% y 36.2% de niños menores de dos años en 2003¹ y 2009,² respectivamente; y si bien es cierto que en más de la mitad de los casos la causa es por deficiencia de hierro,^{3,4} es indiscutible la importancia de conocer las características demográficas de las anemias hereditarias en nuestro medio, ya que en muchos de los casos serán parte del diagnóstico diferencial de las anemias.

Las hemoglobinopatías se definen por la coexistencia de anormalidades cualitativas o cuantitativas, o ambas, en las cadenas de globina.⁵ A la fecha se han descrito más de 700 variantes de hemoglobina.^{5,6,7} Las alteraciones cualitativas se deben a la producción de una estructura anormal de la hemoglobina; las más conocidas son: hemoglobinas S (causante de drepanocitosis), hemoglobina C y hemoglobina E, por las consecuencias biológicas que conllevan.⁶ Las anormalidades cuantitativas resultan de la reducción o ausencia de síntesis de las cadenas α o β de la globina, lo que define a las talasemias α y β , respectivamente.⁵ En las talasemias α , el defecto molecular más común es la delección de uno, dos o tres de los cuatro alelos en el locus α .^{8,9,10} En contraste las talasemias β son consecuencia de mutaciones puntuales que afectan a uno o ambos genes β .¹¹

Las hemoglobinopatías son las enfermedades hereditarias más comunes en la población mundial; cerca de 4.5% de las personas son portadoras de un gen para talasemia o hemoglobinas anormales.^{12,13} A pesar de que las regiones donde más comúnmente se observan estas anormalidades son las zonas mediterráneas, el incremento en la migración ha permitido que estas alteraciones existan en individuos de otras áreas del planeta.¹⁴⁻¹⁸ Está reportado que en México existe una prevalencia de hemoglobinopatías de 1.25 a 26.1%,^{19,20} donde la β -talasemia¹⁹ y la Hb S²⁰ son los hallazgos más frecuentes.

Las alteraciones de la membrana eritrocitaria resultan de anomalías genéticas que comúnmente involucran la producción de las proteínas anquirina, espectrina, banda 3 y proteína 4.2.²¹ La esferocitosis hereditaria es un tipo de anemia hemolítica caracterizada por incremento de la fragilidad osmótica de los eritrocitos, que provoca su destrucción al pasar por el bazo.^{21,22} Los eritrocitos enfermos pierden áreas de su membrana mientras atraviesan la trama vascular esplénica transformando su forma elíptica habitual en una esférica (esferocitos), lo que

incrementa la densidad celular y disminuye su capacidad elástica.²¹

La esferocitosis hereditaria es la enfermedad hemolítica hereditaria más común entre las personas descendientes de europeos, con una prevalencia en Estados Unidos de 1 por cada 2,000 nacimientos,²¹ mientras que en el norte de Europa se reporta en 1:5000,^{23,24} de los que 75% de los casos muestran patrón de herencia autosómico dominante.²⁴

Puesto que en el Noreste de México existen pocos datos de incidencia de hemoglobinopatías y alteraciones de la membrana eritrocitaria el objetivo de este trabajo es describir los resultados anormales en las pruebas de fragilidad osmótica y electroforesis de hemoglobina reportados por el Laboratorio del servicio de Hematología del Hospital Universitario Dr. José E. González en Monterrey, NL.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio retrospectivo y análisis de los resultados de electroforesis de hemoglobina realizados en el periodo de junio 2004 a enero 2010 y de fragilidad osmótica de enero de 2003 a enero de 2010 reportados por el Laboratorio del Servicio de Hematología del Hospital Universitario Dr. José E. González de la Universidad Autónoma de Nuevo León en Monterrey, NL, México. Las muestras recibidas por el Laboratorio provenían de más de diez centros y laboratorios en el noreste del país. Los resultados se evaluaron por medio de estadística descriptiva y se analizaron las características demográficas de los pacientes tratados en nuestro centro.

Electroforesis de hemoglobina

Es una prueba útil para el diagnóstico y seguimiento de hemoglobinopatías. Detecta las principales variantes de hemoglobina, mediante electroforesis en geles de agarosa tamponados alcalinos (pH=8.5) y teñido con negro amido o azul ácido. A través de la densitometría se realiza la interpretación de los patrones electroforéticos y se obtiene una cuantificación relativa de las hemoglobinas. Posteriormente se hace una electroforesis en gel ácido, para confirmar la identificación de las variantes de la hemoglobina, principalmente para diferenciar Hb D, Hb E y Hb C de Hb A2. Los valores de referencia para Hb A son 96.5-98.1%, Hb F 0%, Hb S 0% y Hb A2 1.9-3.5%.

Fragilidad osmótica

Es una prueba para la valoración de la integridad de la membrana eritrocitaria en exposición a un medio hipotónico. Proporciona una medida precisa de qué tan esférico es un eritrocito en el momento de la exposición al medio hipotónico y esta hemólisis se alcanza a concentraciones de NaCl más altas en eritrocitos con tendencia a la esfericidad.

La prueba se realiza exponiendo los eritrocitos del paciente y de un testigo normal a soluciones hipotónicas de NaCl de diversa concentración de 0 a 100% y midiendo cuantitativamente la hemoglobina liberada y la magnitud de la hemólisis. La metodología es por espectrofotometría con espectrofotómetro de Coleman con 0.00-2 de absorbancia en densidad óptica. Los reactivos son NaCl al 0.9% y agua destilada.

Un resultado positivo es cuando el porcentaje de NaCl del paciente es 10 puntos mayor que el porcentaje del testigo de hemólisis; lo cual es compatible con esferocitosis hereditaria. Si el porcentaje de NaCl del testigo es mayor que el porcentaje de NaCl del paciente al 50% de hemólisis, indica eritrocitos resistentes en el paciente, característico de la talasemia.

RESULTADOS

Se evaluaron 243 resultados de electroforesis de hemoglobina de 225 pacientes. La mediana de edad fue 20 (0-85) años, 118 (52.4%) de sexo femenino y 107 (47.6%) masculino. Los años con mayor cantidad de pruebas fueron 2007 (61, 27.1%) y 2009 (55, 24.4%). Se realizaron en promedio 20.2 pruebas por mes. 134 (59.6%) reportes fueron anormales, con 96 (42.6%) pruebas con datos de talasemias, 28 (12.4%) alteraciones por presencia de Hb S únicamente, 6 (2.7%) con alteraciones compuestas (talasemia/Hb S), 3 (1.3%) persistencias hereditarias de Hb F (PHHbF) y 1 (0.4%) alteración por Hb C (Cuadro 1). Predominaron los resultados anormales en los meses de junio y septiembre (16, 12.2%). La mediana de edad para los resultados anormales fue 14.5 (0 - 74) años, con mayor frecuencia en hombres (55.7%). La mediana de los porcentajes de hemoglobinas fueron: Hb A1 95.3%, Hb A2 3.6%, Hb S 0%, Hb F 0%.

Se reportaron 208 resultados de fragilidad osmótica de 201 pacientes con una mediana de edad de 16 (0 - 77) años, 91 (45.3%) mujeres y 110 (54.7%) hombres. Los

Cuadro 1. Frecuencia de resultados de electroforesis de hemoglobinas

Alteración	Pruebas	%	
Normal	91	40.4	
Talasemias	B-talasemia portador	85	37.8
	B-talasemia homocigoto	1	0.4
	B-talasemia heterocigoto	5	2.2
	A-Talasemia portador	3	1.3
	A-Talasemia	2	0.9
Hemoglobina S	Drepanocitosis	8	3.6
	Rasgo drepanocítico	20	8.9
	Talasemias / Hb S	6	2.7
PHHbF	3	1.3	
Hb C	1	0.4	
Total	225	100	

años con mayor cantidad de pruebas fueron 2006 (39, 19.4%) y 2009 (36, 17.9%). Se realizaron, en promedio, 17.3 pruebas por mes. Se reportaron 96 (47.8%) casos anormales, con media de hemólisis en 88.1% en solución de NaCl al 0.9%. La mediana de edad para los resultados positivos fue 13 (0 -77) años, con predominio del sexo femenino (54.2%).

DISCUSIÓN

En México, en el estudio del paciente con anemia no es muy común que de primera instancia se considere en el diagnóstico diferencial una anemia hemolítica. De hecho, es más fácil que el paciente sea tratado empíricamente que estudiado de manera adecuada, casi todos los hematólogos mexicanos han conocido algún paciente con anemia microcítica que ha recibido hierro oral y parenteral repetidamente, antes de ser diagnosticado con talasemia. En nuestro país existen diferencias en la frecuencia de diversas patologías y el caso de las anemias hereditarias no es la excepción, por ello decidimos conocer la información regional. Nuestros datos provienen de un laboratorio de referencia, por lo que estos resultados son de pacientes sintomáticos, en estudio por anemia microcítica o hemolítica en la mayoría de los casos, por lo que no pueden extrapolarse a la población general; sin embargo, desde esta perspectiva podemos percibir un reflejo de la frecuencia de estas alteraciones en nuestro medio.

La solicitud de pruebas de electroforesis de hemoglobina en sólo 225 pacientes en más de cinco años, teniendo como referencia una población de más de 4 millones de habitantes en el estado de Nuevo León, nos muestra la baja incidencia de estas alteraciones en la región, o bien el índice bajo de sospecha clínica. Además, como se observa en el Cuadro, las hemoglobinopatías se diagnosticaron sólo en 134 pacientes (59.5%) de las 225 pruebas solicitadas, lo que muestra el deficiente estudio clínico de los pacientes por parte del médico tratante que se ve reflejado en solicitudes excesivas.

Aún con los sesgos que pudiera implicar esta situación, la frecuencia de estas alteraciones contrasta con lo presentado por investigadores en el centro del país²⁵ donde, a pesar de estudiar un grupo extenso y con inclusión de diversas etnias, encontraron una mayor frecuencia de β -talasemias heterocigotas, mientras que nuestros datos reflejan, con ciertas reservas, una gran diferencia a favor de los portadores de β -talasemia; sin embargo, la relación entre talasemias y drepanocitosis es similar (70 y 25%, respectivamente). La relativamente elevada frecuencia de alteraciones por Hb S, a pesar de que en nuestra región no existe una gran población de raza negra, pudiera explicarse por la migración de regiones del Golfo de México,²⁰ como ha ocurrido en otros países.^{15,16} La baja frecuencia de hemoglobinopatías, como la presencia de Hb C y PHHbF son similares a las reportadas en el sur del país,²⁵ aunque mayores a las esperadas por los autores.

En relación con la fragilidad osmótica, cerca de la mitad de los resultados fueron positivos con una media de hemólisis suficiente para diagnosticar esferocitosis hereditaria; además, la mediana de edad concuerda con la encontrada por otros investigadores.²¹ La frecuencia observada en el género masculino o femenino no es diferente, lo que recuerda que la forma de herencia es autosómica dominante en la mayoría de los casos y en ninguno se liga al cromosoma X. Conviene recordar que en casos leves el diagnóstico puede pasar inadvertido por muchos años, por ello el diagnóstico se efectuó a los 77 años de edad en un paciente.

Es necesario realizar estudios prospectivos en población general para determinar la prevalencia de hemoglobinopatías y alteraciones de la membrana eritrocitaria en la región norte del país; además, también es conveniente que se establezca un registro regional o nacional y se publiquen los resultados de estos esfuerzos.

Mientras tanto, nuestros datos sugieren que la esferocitosis hereditaria es la alteración hemolítica más frecuente en pacientes con anemia en el noreste del país.

REFERENCIAS

- Villalpando S, Shamah-Levy T, Ramirez-Silva CI, Mejia-Rodriguez F, Rivera JA. Prevalence of anemia in children 1 to 12 years of age. Results from a nationwide probabilistic survey in Mexico. *Salud Publica Mex* 2003;45 (Suppl 4):S490-498.
- Villalpando S, Shamah-Levy T, Garcia-Guerra A, Mundo-Rosas V, et al. The prevalence of anemia decreased in Mexican preschool and school-age children from 1999 to 2006. *Salud Publica Mex* 2009;51(Suppl 4):S507-514.
- Mendez Estrada RO, Pacheco B, Noriega Verdugo H, Quihui L, Morales G, Valencia ME. [Prevalence of iron deficiency and iron deficiency anemia in pregnant adolescents from northwest Mexico, 2007-2008]. *Arch Latinoam Nutr* 2009;59(2):147-151.
- Duque X, Flores-Hernandez S, Flores-Huerta S, Mendez-Ramirez I, et al. Prevalence of anemia and deficiency of iron, folic acid, and zinc in children younger than 2 years of age who use the health services provided by the Mexican Social Security Institute. *BMC Public Health* 2007;7:345.
- Clarke GM, Higgins TN. Laboratory investigation of hemoglobinopathies and thalassemias: review and update. *Clin Chem* 2000;46(8 Pt 2):1284-1290.
- Hardison RC, Chui DH, Giardine B, Riemer C, et al. HbVar: A relational database of human hemoglobin variants and thalassemia mutations at the globin gene server. *Hum Mutat* 2002;19(3):225-233.
- Patrinis GP, Giardine B, Riemer C, Miller W, et al. Improvements in the HbVar database of human hemoglobin variants and thalassemia mutations for population and sequence variation studies. *Nucleic Acids Res* 2004;32(Database issue):D537-41.
- Cai R, Liu J, Wang L, Liang X, et al. Study on molecular epidemiology of the alpha-thalassemias in Liuzhou City, Guangxi Autonomous Region, China. *Hemoglobin* 2004;28(4):325-333.
- Higgs DR, Vickers MA, Wilkie AO, Pretorius IM, et al. A review of the molecular genetics of the human alpha-globin gene cluster. *Blood* 1989;73(5):1081-1104.
- Chong SS, Boehm CD, Cutting GR, Higgs DR. Simplified multiplex-PCR diagnosis of common southeast asian deletional determinants of alpha-thalassemia. *Clin Chem* 2000;46(10):1692-1695.
- Cao A, Galanello R. Beta-thalassemia. *Genet Med* 2010;12(2):61-76.
- Angastiniotis M, Modell B. Global epidemiology of hemoglobin disorders. *Ann N Y Acad Sci* 1998;850:251-269.
- Weatherall DJ, Clegg JB. Inherited haemoglobin disorders: an increasing global health problem. *Bull World Health Organ* 2001;79(8):704-712.
- Giordano PC, Hartevelde CL, Heister AJ, Batelaan D, et al. The molecular spectrum of beta-thalassemia and abnormal hemoglobins in the allochthonous and autochthonous dutch population. *Community Genet* 1998;1(4):243-251.

15. Hickman M, Modell B, Greengross P, Chapman C, et al. Mapping the prevalence of sickle cell and beta thalassaemia in England: estimating and validating ethnic-specific rates. *Br J Haematol* 1999;104(4):860-867.
16. Ashtiani MT, Monajemzadeh M, Sina AH, Berenji F, et al. Prevalence of haemoglobinopathies in 34,030 healthy adults in Tehran, Iran. *J Clin Pathol* 2009;62(10):924-925.
17. Casas-Castaneda M, Hernandez-Lugo I, Torres O, Barajas H, et al. Alpha-thalassemia in a selected population of Mexico. *Rev Invest Clin* 1998;50(5):395-398.
18. Ibarra B, Vaca G, Franco-Gamboa E, Garcia-Cruz D, et al. Abnormal hemoglobins in Northwestern Mexico. *Acta Anthropogenet* 1982;6(4):217-223.
19. Ruiz-Arguelles GJ, Lopez-Martinez B, Ruiz-Reyes G. Heterozygous beta-thalassemia: not infrequent in Mexico. *Arch Med Res* 2001;32(4):293-295.
20. Cobian JG, Sanchez-Lopez JY, Magana MT, Chavez ML, et al. Types and frequencies of hemoglobin disorders in the pacific coast of four states of Mexico. *Rev Invest Clin* 2009;61(5):399-404.
21. Perrotta S, Gallagher PG, Mohandas N. Hereditary spherocytosis. *Lancet* 2008;372(9647):1411-1426.
22. Sanchez-Lopez JY, Camacho AL, Magana MT, Ibarra B, Perea FJ. Red cell membrane protein deficiencies in Mexican patients with hereditary spherocytosis. *Blood Cells Mol Dis* 2003;31(3):357-359.
23. Delaunay J. The molecular basis of hereditary red cell membrane disorders. *Blood Rev* 2007;21(1):1-20.
24. Lux SE, Tse WT, Menninger JC, John KM, et al. Hereditary spherocytosis associated with deletion of human erythrocyte ankyrin gene on chromosome 8. *Nature* 1990;345(6277):736-739.
25. Zayas-Perez P, Ruiz-Reyes G. Hemoglobinas anormales identificadas en una sola institución: experiencia de 22 años. *Rev Hematol Mex* 2010;11(2):75-77.

Nosographic performance of the red cell distribution width (RDW) for the diagnosis of thalassemia

Guillermo Ruiz-Reyes,* Guillermo J Ruiz-Argüelles,* Olga Guzmán,* Alejandro Ruiz-Argüelles*

RESUMEN

Antecedentes: el diagnóstico definitivo de talasemia se fundamenta en pruebas de laboratorio relativamente complejas y, por tanto, en la práctica clínica rutinaria estos síndromes pueden subestimarse.

Métodos: se incluyeron 500 individuos identificados en forma consecutiva en los Laboratorios Clínicos de Puebla por presentar hipocromía (HCM < 24 pg) o microcitosis (VCM < 75 fl en mujeres y < 80 fl en hombres), con o sin anemia, a lo largo de 16 meses. En todos ellos se investigó deficiencia de hierro y talasemia α y β por métodos definitivos.

Resultados: del total de los 500 pacientes incluidos en el estudio, 394 (78.8%) mostraban deficiencia de hierro, en 37 se documentó talasemia β y en 11 talasemia α ; en los restantes 58 casos (11.6%) no pudo establecerse un diagnóstico definitivo. El ancho de la distribución eritrocitaria (RDW) fue significativamente menor en pacientes con talasemia que en quienes tuvieron deficiencia en hierro y, por sí solo, este parámetro mostró alta especificidad y sensibilidad nosográfica para el diagnóstico de talasemia α o β .

Conclusiones: los síndromes talasémicos deben sospecharse en individuos con microcitosis o hipocromía, con o sin anemia, con valores muy bajos del RDW. En estos individuos deben indicarse pruebas confirmatorias.

Palabras clave: talasemia, anemia, hemoglobina, RDW

ABSTRACT

Background: The definite diagnosis of thalassemia is based upon relatively complex laboratory tests, hence, these syndromes might be underestimated in the routine clinical setting.

Methods: 500 consecutive individuals identified in Laboratorios Clínicos de Puebla with red blood cells showing either hypochromia (MCH < 24 pg) and/or microcytosis (MCV < 75 fl in women or < 80 fl in man), with or without anemia, were prospectively accrued in this study, along a 16 month-period. Iron deficiency, β and α -thalassemia were searched by definite methods.

Results: Out of the 500 consecutive cases with red blood cell hypochromia or microcytosis, 394 (78.8%) were found to have iron deficiency, 37 cases had β -thalassemia, 11 cases had α -thalassemia, while in 58 cases (11.6%) a definite diagnosis could not be established. Red cell distribution width (RDW) was significantly lower in the thalassemic patients than in the iron deficient group, and it proved to bear high nosographic sensitivity and specificity for the diagnosis of either α or β thalassemia.

Conclusions: The thalassemic syndromes should be suspected in individuals with red blood cell microcytosis and / or hypochromia, with or without anemia, showing very low RDW values. These individuals should be further tested for thalassemia.

Key words: Thalassemia, anemia, hemoglobin, RDW

* Laboratorios Clínicos de Puebla, Puebla, México

Correspondencia: Dr. Alejandro Ruiz-Argüelles. Laboratorios Clínicos de Puebla. Díaz Ordaz 808. 72530 Puebla, Pue. México. Correo electrónico: aruiz@clinaruiz.com
Recibido: mayo, 2010. Aceptado: junio, 2010.

Este artículo debe citarse como: Ruiz-Reyes G, Ruiz-Argüelles GJ, Guzmán O, Ruiz-Argüelles A. Nosographic performance of the Red Cell distribution width (RDW) for the diagnosis of thalassemia. Rev Hematol Mex 2010;11(3):141-145.

www.nietoeditores.com.mx

The thalassemias result from impaired synthesis of one or more of the polypeptide chains of the normal human hemoglobins; this primary feature is a quantitative one and contrasts with the qualitative changes of hemoglobin structure that characterize the hemoglobinopathies.¹ Thalassemia is considered the most common genetic disorder worldwide: As far as beta (β -thalassemia) is concerned, about 3% of the world's population (180 million people) carry β -thalassemia genes,² these genes being

particularly prevalent in inhabitants of Italy and Greece, the highest prevalence of the carrier state being found in Sardinia (34%), the delta region of the Po river near Ferrara (20%) and Sicily (10%). The prevalence of the carrier state of β -thalassemia in other parts of the world does not seem to be low and there are data which suggest that the condition is not infrequent;^{3,4} in addition, clusters of the condition in Mexico with up to 15% prevalence have been identified,^{5,6} with data which suggest that β -thalassemia genes in some places are autochthonous⁵ and in others imported from the Mediterranean area.⁶ Concerning α thalassaemia in México, the information is even more scant: α thalassaemia has been found to be responsible for 1% of the hypochromic microcytic anemia in México, this figure being about one half of that of β -thalassaemia.⁴ The thalassaemic syndromes may result in red blood cell hypochromia and / or microcytosis with or without anemia, conditions that can mimic iron-deficiency states.¹ In geographic areas where both conditions are common, routine markers useful in their differential diagnosis are necessary. We report herein on the nosographic performance of the red cell distribution width (RDW) as a single presumptive marker for the diagnosis of thalassaemia.

MATERIAL AND METHODS

Blood samples from 500 consecutive individuals identified in Laboratorios Clínicos de Puebla, with red blood cells showing either hypochromia (MCH<24 pg) or microcytosis (MCV <75 fl in women or <80 fl in man), with or without anemia, were prospectively accrued in the study along a 16 month-period. Written informed consent was obtained from all individuals.

Laboratory tests

a) Routine red blood cell analysis

Values for hemoglobin (Hb), hematocrit, red cell counts, mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), and red cell distribution width (RDW) were measured in all subjects in an automated hematology analyzer (Hmx[®] Beckman Coulter).

b) *Assessment of the zinc-protoporphyrin (ZPP) complex*
PPZ levels were determined in all samples with the ProtoFluor[®] Reagent Kit (Helena Laboratories) following the instructions of the manufacturer. Results greater than

the cut-off level of 80 mmol ZPP/mol heme were used to define iron deficiency.

c) *Quantification of Hemoglobin A₂ (HbA₂)*

In all samples in which iron deficiency was excluded (PPZ levels below 80 mmol/mol heme), the quantification of HbA₂ was performed by ionic exchange column chromatography using the commercial β -Thal HbA₂ Quick Column Kit[®] (Helena Laboratories) according to provided instructions. Levels of HbA₂ above 3.8% were considered as indicative of β -thalassaemia.

d) *DNA extraction*

High molecular weight DNA was extracted from the samples remaining after exclusion of β -thalassaemia according to standard protocols.⁷

e) *Detection of a gene mutations and deletions*

The genotype $-a^{4,2}$ was determined with primers described in 8. The corresponding PCR conditions are outlined in (9). The genotype $-a^{3,7}$ was analyzed (10) and homozygous cases were confirmed with the help of a multiplex PCR (11). Additional deletional a -Thal (a^{SEA} , a^{THAI} , $a^{20.5}$, a^{MED} , a^{FIL}) included in this multiplex PCR were also screened for.¹¹ Non-deletional a -Thal mutations (a^{2Hph} , a^{2Nco} , a^{TSaudi} , a_{Nco}) were searched by selective amplification¹² and a^{2Hph} mutations were confirmed by direct sequencing.¹³

f) *Statistical analysis*

Mean values of the different parameters in the three groups were compared with the use of the *t* test for non-paired observations. Sensitivity, specificity, relative risk and odds ratio of several parameters for the identification of patients with thalassaemia were estimated in contingency tables. Recievers Operating Characteristics (ROC) curves were estimated for MCV, MHC and RDW with the aid of the MedCal[®] software. Significant differences were considered when *a* was less than 0.05.

RESULTS

Patients' distribution

Out of the 500 consecutive cases with red blood cell either hypochromia or microcytosis, 394 (78.8%) were found to have iron deficiency, 48 cases (9.6) had thalassaemia (37 cases of β -thalassaemia and 11 cases of α thalassaemia),

whereas in 58 cases (11.6%) a definite diagnosis could not be established.

Red cell features

The values of hemoglobin MCV, MHC, RDW, PPZ and HBA₂ obtained in the three groups of patients are summarized in table 1. Most striking was the finding that the values of the RDW, but not those of the MCV and MHC, were significantly different in the iron deficiency group than in the thalassemia patients. As expected, hemoglobin values were significantly lower in the iron deficiency group, both in the female and the male patients, than in the α or β thalassemia subjects. Inasmuch as the elevation of the PPZ complex was used as one of the diagnostic criteria for iron deficiency, its mean value was, as expected, much higher in this group.

Table 2 shows the sensitivity and specificity of the RDW values to discriminate patients with thalassemia, at three different cutoff levels, and figure 1 depicts the corresponding ROC curve. The individual association of low RDW values with thalassemia, either α or β , is reflected in the χ^2 values and the figures of the relative risk and

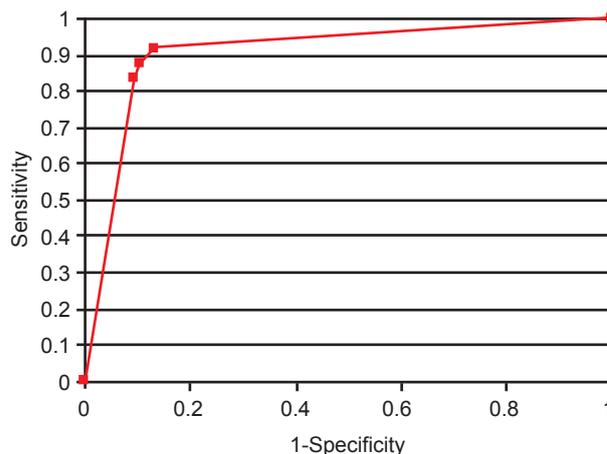


Figure 1. ROC Curve displaying the nosographic performance of the RDW for the diagnosis of thalassemia at three different cutoff values (see Table 2)

odds ratio at all three cutoff values. None of the other red cell parameters that were analyzed (Hb, MCV or MCH), even approximated acceptable values of sensitivity and specificity (data not shown).

Table 1. Salient features of the red blood cells in the individuals identified with iron deficiency, β -thalassemia and α -thalassemia

Parameter	Iron Deficiency	p^*	β -Thalassemia	p^{**}	α -Thalassemia
Hemoglobin, g/dL	9.56 \pm 1.98§	9.36E-16	12.04 \pm 1.45	ns	12.62 \pm 2.05
MCV, fL	66.82 \pm 5.67	ns	66.22 \pm 4.09	0.00225	71.48 \pm 4.72
MHC, %	20.71 \pm 2.49	ns	20.68 \pm 1.43	0.00646	22.69 \pm 2.17
RDW, %	19.07 \pm 3.48	1.53E-32	15.11 \pm 1.09	ns	14.34 \pm 2.03
ZPP, mM	156.82 \pm 52.55	3.48E-69	58.92 \pm 16.72	4.27E-15	42.45 \pm 12.01
HBA ₂ , %			4.97 \pm 0.81	7.75E-03	2.66 \pm 0.40

§Results are expressed as mean \pm standard deviation.

p values obtained by the t test

p^* Iron deficiency versus all thalassemias

p^{**} β -thalassemia versus α -thalassemia

ns = non significant

Table 2. Nosographic performance of RDW for the diagnosis of Thalassemia

Cutoff Value	Sensitivity, %	Specificity, %	χ^2 (Yates)	p (χ^2)	Relative Risk	Odds Ratio
RDW \leq 15.7	83.3	90.52	157.81	<1.0 e-8	23.78	47.76
RDW \leq 16.0	87.5	89.7	164.8	<1.0 e-8	30.87	61.46
RDW \leq 16.2	91.6	86.8	151.18	<1.0 e-8	39.92	72.73

DISCUSSION

It is known that the most frequent cause of anemia as the primary complain in México is iron deficiency, which represents 69.6% of patients;^{4,14} moreover, iron deficiency anemia represents 6% of all patients studied and treated at our institution.^{14,15} In the present study, perhaps because individuals with or without anemia were accrued, iron deficiency anemia represented up to 78.8% of all cases of microcytosis and/or hypochromia. We also found that the thalassemic syndromes accounted for almost 10% of such cases and that β -thalassemia was at least three times more frequent than α -thalassemia in this sample. It is important to mention that types of α -thalassemia other than the ones that we have searched for in this paper may account for some additional cases of thalassemia, that were included in the subset of individuals in which a definite diagnosis could not be established; hence, it is possible that we may be underestimating the prevalence of α -thalassemia in this study. Nevertheless, it is evident that either α or β thalassemia is not an infrequent condition in our population and therefore, a reliable surrogate marker for its detection might prove useful in the routine clinical setting.

The analysis of the nosographic performance of the RDW values resulted in high levels of sensitivity and specificity for the correct identification of patients with either α or β -thalassemia. The relative risk values for the different cutoff points of the RDW should be interpreted as the number of times that the probability of thalassemia in an individual fulfilling the criterion ($RDW \leq \text{cutoff}$) increases in comparison to an individual not fulfilling it; while the value of the odds ratio is a measurement of the information gain in terms of times. Taken altogether, these figures suggest that the value of the RDW is a reliable marker of thalassemia in individuals with microcytosis or hypochromia. As with most diagnostic procedures, if a stringent cutoff value is used, the finding becomes highly specific but not as sensitive and, conversely, if the decision is based in a higher cutoff level, the test gains in sensitivity but sacrifices specificity.

In the routine clinical setting, the RDW might be used at the 16.2% cutoff level as a screening procedure for thalassemia. This should identify correctly more than 9 out of 10 patients actually having thalassemia, while it will become an indication for unnecessary further testing in less than 15% of subjects not having thalassemia. This

predictive value might prove very useful in situations where confirmatory tests for thalassemia are not readily available, such as in many communities of developing countries, but also might be suitable to rule out thalassemia in other scenery. In a study informed from the United States, there are data showing that the most frequent cause of anemia in the general practice, the "common anemia" is thalassemia, since β - added to α -thalassemias are more frequent than iron deficiency anemia;¹⁶ hence, a simple routine test with a reliable predictive value could prove useful for decision making.

REFERENCES

1. Ruiz-Reyes G. Hemoglobinopatías y talasemias. In: Ruiz-Argüelles GJ (editor). *Fundamentos de Hematología*. 3a ed. México: Médica Panamericana, 2003;p:132-154.
2. Lukens JN. The thalassemias and related disorders: Quantitative disorders of hemoglobin synthesis. In: Lee GR, Foerster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer JP, Rodgers GM (eds). *Wintrobe's Clinical Hematology*. 10th ed. Baltimore: Williams & Wilkins, 1999;p:1405-1448.
3. Ruiz-Reyes G.: Abnormal hemoglobins and thalassemia in México. *Rev Invest Clín Méx* 1998; 50:163-170.
4. Ruiz-Argüelles GJ, López-Martínez B, Ruiz-Reyes G. Heterozygous beta-thalassemia: Not infrequent in México. *Arch Med Res* 2001;32:293-295.
5. Reyes-Cruz G, Ruiz-Reyes G, Hernández-Acasiete M. Identificación de un foco de talasemia beta en Tamiahua, Veracruz. *Rev Invest Clín Méx* 1990;42:189-192.
6. Lisker R, Ruiz-Reyes G, López G, Peral-López AM, Zárate G. Características hereditarias de la población mexicana. Estudio de una comunidad de origen italiano. *Rev Invest Clín Méx* 1966; 18:11-21.
7. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular cloning: A laboratory manual*. 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.
8. Baysal E, Huisman THJ. Detection of common deletional alpha-thalassemia-2 determinants by PCR. *Am J Hematol* 1994;46:208-213.
9. Reyes-Núñez V, Garcés-Eisele J, Jorge S, Kimura E, et al. Molecular Characterization of Alpha-thalassemia in the Mexican Population. *Rev Invest Clín* (in press).
10. Bergstrom-Jones AK, Poon A. Evaluation of a single-tube multiplex polymerase chain reaction screen for detection of common alpha-thalassemia genotypes in a clinical laboratory. *Am J Clin Pathol* 2002;118:18-24.
11. Tan ASC, Quah C, Low PS, Chong SS. A Rapid and Reliable 7-Deletion Multiplex Polymerase Chain Reaction Assay for α -Thalassemia. *Blood* 2001;98:250-251.
12. Kattamis AC, Camaschella C, Sivera P, Surrey S, Fortina P. Human alpha-thalassemia syndromes: detection of molecular defects. *Am J Hematol* 1996;53:81-91.
13. Dode C, Rochette J, Krishnamoorthy R. Locus assignment of human alpha globin mutations by selective amplification and direct sequencing. *Br J Haematol* 1990;76:275-281.

14. Ruiz-Argüelles GJ, Ramírez-Cisneros F, Rivadeneyra L, Ruiz-Delgado MA, Molina-Alavez A. La frecuencia de las anemias megaloblásticas en la práctica privada en Puebla, México: Experiencia de 17 años. *Medicina Univ* 1999;1:165-167.
15. Ruiz-Reyes G. Los síndromes talasémicos no son infrecuentes en la población mexicana y se subdiagnostican y confunden con deficiencias de hierro. *Medicina Univ* 1999;1:67-73.
16. Beutler E. The common anemias. *J Am Med Assoc* 1988; 259:2433-2437.

XXXIV | LIII
WORLD CONGRESS | CONGRESO INTERNACIONAL
INTERNATIONAL SOCIETY OF HEMATOLOGY | AGRUPACIÓN MEXICANA PARA EL ESTUDIO DE LA HEMATOLOGÍA



C a n c ú n · M é x i c o
A p r i l 2 5 - 2 8 , 2 0 1 2

Henry G Kunkel y el mieloma múltiple

Damián Palafox,* Luis Llorente*

RESUMEN

La historia del estudio del mieloma múltiple se remonta a mediados del siglo XIX con la descripción de los primeros pacientes con la enfermedad. A partir de ese momento sobrevino una revolución en las áreas de la Medicina, Inmunología y Química que trajo consigo el descubrimiento de la estructura de las proteínas, novedosas técnicas de laboratorio y con ello, un hallazgo magistral por Henry Kunkel que cambió radicalmente la concepción que prevalecía sobre la fisiopatogenia del mieloma. El presente trabajo precisa los sucesos que llevaron a dilucidar la estructura química de las proteínas secretadas por células plasmáticas malignas.

Palabras clave: mieloma múltiple, historia, Henry Kunkel, células plasmáticas malignas.

ABSTRACT

Multiple myeloma's history begins in the first half of the XIX century with the description of the first patients with the disease. Since that moment, a veritable revolution took place in the fields of medicine, immunology and chemistry, which brought about the discovery of the proteins' structure, brand new laboratory techniques and a masterly discovery by Henry Kunkel, which radically changed the prevalent conception about myeloma's physiopathogeny. We herein present with detail the events that lead to the elucidation of the chemical structure of malignant plasma cells' secreted proteins.

Key words: Multiple myeloma, history, Henry Kunkel, malignant plasma cells.

No creemos que haya habido, hubiera o fuera a haber una historia del mieloma múltiple en que no se pondere el importante papel que tuvo Henry George Kunkel en la resolución de este complicado acertijo de la Naturaleza. Esta revisión ofrece un breve panorama de los inicios del estudio del mieloma múltiple a mediados del siglo XIX, el surgimiento de la inmunología moderna en el siglo XX y los clarividentes hallazgos de Henry Kunkel sobre las proteínas del mieloma y los anticuerpos.

ANTECEDENTES

Quizá los dos casos más famosos de mieloma múltiple, y a partir de los cuales surgió el interés por investigar la enfermedad, corresponden a una mujer y un hombre durante la quinta década del siglo XIX. En 1844, Samuel Solly publicó, en *Medical and Chirurgical Transactions of London*, las características del padecimiento conocido como "mollities ossium" en dos de sus pacientes; describió con detalle y precisión las manifestaciones clínicas de ambos.¹ Una era Sarah Newbury, una mujer de 39 años de edad. El mismo Solly aseguró que la mujer tenía una apariencia contenta y, salvo por su delgadez extrema, era por demás sana. Sarah refirió pérdida de fuerza desde tres años antes, aunque sólo declaró tener dolores reumáticos particularmente notorios en los pies. El cuadro fue agravándose, a tal grado que sólo lograba sostenerse en pie con su pierna izquierda y caminar asistida. Un día, su marido intentó cargarla desde su sala de chimenea hasta su cama y en ese momento tuvo una sensación tan extremadamente dolorosa, que refirió haber sentido que sus caderas se rompían en mil pedazos. Tres años más tarde, Solly acudió a casa de

* Departamento de Inmunología y Reumatología. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. México, DF.

Correspondencia. Dr. Luis Llorente. Departamento de Inmunología y Reumatología. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Vasco de Quiroga 15. Tlalpan. México 14000, DF. Correo electrónico: luisllorentepeters57@gmail.com
Recibido: mayo 2010, aceptado: Mayo 2010

Este artículo debe citarse como: Palafox D, Llorente L. Henry G. Kunkel y el mieloma múltiple. Rev Hematol Mex 2010;11(3):146-151.

Sarah y reportó que la mujer tenía múltiples alteraciones óseas en la columna, las costillas, las clavículas y el tórax. La paciente fue deteriorándose progresivamente hasta el día de su muerte, la cual se atribuyó a asfixia. Durante la necropsia se realizó el estudio de médula ósea, que evidenció la existencia de una sustancia grumosa color rojo carmesí. Este último hallazgo coincide con el encontrado en Thomas Alexander McBean, un comerciante de 45 años que era tratado desde 1843 por el Dr. Thomas Watson, debido a fatiga que le obligaba a detenerse al caminar e inclinarse hacia el frente para retomar el aire y, además, también tenía poliuria. Dos años más tarde consultó al Dr. Macintyre en Harley Street (desde entonces y hasta ahora la calle más representativa de la medicina privada londinense), quien optó por tomar una muestra de orina que le hizo llegar al prestigioso patólogo y químico Henry Bence-Jones, quien determinó sus características.² Esta muestra poseía alta densidad, era opaca y ante la adición de ácido nítrico producía un precipitado que tenía la peculiar característica de ser capaz de disolverse con el calor y volverse a formar al enfriarse. Finalmente, concluyó que la proteína hallada en la muestra era “deutóxido hidratado de albúmina” y que la cantidad de esa sustancia era proporcional a la cantidad de albúmina en la sangre sana.³ El paciente murió en 1886, extenuado luego de martirizantes jornadas con la enfermedad. La causa de la muerte fue registrada como: atrofia por albuminuria.⁴ Si bien estos casos son ampliamente reconocidos, cabe resaltar el que describiera en 1873 J. von Rustizky, a quien se atribuye el acuñamiento del término mieloma múltiple. Mientras trabajaba en el Instituto del profesor von Recklinghausen, von Rustinzky describió en la necropsia de un hombre de 47 años, ocho tumores rojizos y de consistencia suave.⁵ El paciente tenía antecedentes de oftalmoplejía, fracturas y tumores en las costillas, manubrio esternal y vértebras torácicas que protruían hacia el canal medular.

El caso mejor descrito y más famoso de la enfermedad corresponde al reportado por el checo Otto Kahler en 1889.⁶ Fue así que se estableció el epónimo de enfermedad de Kahler (correspondiente a mielomatosis múltiple). Kahler, quien colaborara con Duchenne y Charcot en Francia, describió el caso de un paciente (curiosamente, también médico, el Dr. Loos), quien presentaba constantemente dolor óseo localizado en las costillas, la espina dorsal, los hombros y las clavículas y que se exacerbaba con el ejercicio y con movimientos discretos. Kahler

advirtió, además, características de la orina similares a las encontradas por Bence-Jones. Loos murió ocho años después del inicio de los síntomas. La necropsia reportó la existencia de múltiples tumores de color rojo grisáceo en las costillas y vértebras torácicas, y en células largas y redondeadas, congruentes con mieloma múltiple.

El inicio de la inmunología moderna

En 1890 Emil Behring y Shibasaburo Kitasato descubrieron la seroterapia con suero de conejos inmunizados contra tétanos y difteria.⁷⁰ Un año después, en la noche de Navidad, se efectuó la primera aplicación de la seroterapia a un niño con difteria. Esto le valió a Behring recibir un título nobiliario (el *von* precediendo su apellido) y el primer premio Nobel de Fisiología o Medicina (1901). El experimento de Kitasato y Behring es único en su género por dos razones: 1) mostró que la resistencia a enfermedades microbianas puede ocurrir a través del poder del suero; y 2) demostró la inmunidad pasiva; por ejemplo, la adquisición de resistencia a patógenos mediante la transferencia de esa propiedad proveniente de un donador inmunizado. El experimento, por lo demás, abrió de par en par la puerta a la inmunología moderna, al proveer un sustrato concreto de estudio, que aunque de estructura química aún desconocida, al menos estaba ahí expectante, en la sangre, en el suero. Ese mismo año, el médico Paul Ehrlich llegó a la conclusión de que cuando dos toxinas diferentes (ricina y abrina) se administran a animales de experimentación se originan dos *antikörper* diferentes e introduce así este término –anticuerpo- que continúa utilizándose hasta la fecha.⁸

El mismo Ehrlich, en 1900, presentó ante la Royal Society de Londres su sorprendente teoría de las cadenas laterales, en la que los anticuerpos vienen siendo estructuras proteicas membranales preformadas, que al ser seleccionadas (no inducidas) por el antígeno, aumentan su síntesis vertiéndose en exceso en el suero.⁹ Si bien fue la primera teoría sobre la formación de anticuerpos, ésta tuvo muchos detractores entre sus contemporáneos. Así y todo, Ehrlich obtuvo el premio Nobel de Fisiología o Medicina en 1908, por sus múltiples aportaciones a la Inmunología.

La Inmunoquímica

Aunque la Inmunología aún se encontraba en sus albores, fue una de las primeras disciplinas biológicas que adquirió formalmente un sólido apoyo en la química. En 1907,

Svante Arrhenius (premio Nobel de Química en 1903) acuñó el término de inmunología para referirse a la unión de la química con la inmunología biomédica, ciencia que perduraría unos 50 años obsesionada por la reacción antígeno-anticuerpo.¹⁰ Arrhenius no estaba del todo de acuerdo con la insistencia de Ehrlich en el contorno molecular y, en cambio, proponía que los antígenos y anticuerpos se combinaban mediante una forma de unión electrostática coloidal. Creía que la unión antígeno-anticuerpo compartía semejanzas con la interacción de ácidos débiles con bases. Este precursor fisicoquímico, cuyos experimentos fueron muy sonados en la época —a pesar de tener fundamentos erróneos— introdujo a la inmunología aspectos termodinámicos, las constantes de equilibrio, los coeficientes de viscosidad y otros parámetros cuantitativos con lo que no sólo unieron, sino que literalmente fusionaron, a la química con la inmunología.

La saga la continuó Karl Landsteiner (premio Nobel de Fisiología o Medicina en 1930), quien midió cuidadosamente la especificidad de las reacciones antígeno-anticuerpo a compuestos sintéticos, con variaciones tan sutiles que disiparon toda duda sobre la exquisita especificidad de las mismas. Landsteiner descubrió las funciones de los haptenos y el efecto acarreador (*carrier effect*).¹¹ Con sus experimentos logró dar a la idea de antigenicidad una contraparte material que era propia de la especificidad de los anticuerpos.

En esta época prevalecía la idea de que sólo las proteínas, y acaso también las glicoproteínas, eran las únicas estructuras químicas capaces de despertar la producción de anticuerpos ya que esto jamás sucedía cuando se inmunizaban animales con azúcares. Sin embargo, en 1923 Michael Heidelberger y Oswald T Avery, mientras estudiaban al polisacárido del pneumococo, descubrieron lo contrario;¹² demostraron que los polisacáridos eran antigénicos y, más aún, inmunogénicos.

Pero la Inmunología, que por todo el primer cuarto del siglo XX había sido considerada una disciplina médica con claras aspiraciones terapéuticas, llegó a convertirse, al final de la década de 1920, en una mina de oro de investigación para los químicos. La química coloidal se encontraba en su cenit de popularidad, aunque ya se iniciaban las nociones sobre enlaces polares e hidrofílicos. De importancia capital sobre esto último fue el modelo atómico de Niels Bohr, con su imagen de capas de electrones que introdujo la idea de electrón-valencia.

En la siguiente década, el médico inglés John R Marrack propuso, en 1934, que las fuerzas hidrofílicas (enlaces o puentes de hidrógeno) eran las responsables de la unión antígeno-anticuerpo. Más aún, describió que si los antígenos y algunos anticuerpos en particular pudieran tener una valencia mayor a la unidad, se lograrían explicar satisfactoriamente varios enigmas inmunológicos, como la floculación, precipitación y solubilidad de los complejos antígeno-anticuerpo en zonas de exceso de antígeno o de anticuerpo. Su hipótesis, basada en el modelo del átomo de Bohr, combatió a la ya para entonces herida de muerte, pero aún prevalente, teoría coloidal y al consenso general de que los anticuerpos eran monovalentes.¹³

Los siguientes años fueron enteramente de avances tecnológicos que brindaron a la inmunología cierta certeza sobre la naturaleza física del anticuerpo, y todo esto se dio en Escandinavia. En el intervalo entre las dos guerras mundiales, Theodor Svedberg, en Suecia, estampó el sello de creatividad en la tecnología química. Obtuvo el premio Nobel de Química en 1926 y es conocido, principalmente, por haber sido el inventor de la ultracentrífuga.¹⁴ De hecho, los coeficientes de sedimentación se miden en unidades Svedberg (S) en su honor. De 1925 a 1932 Svedberg tuvo como alumno y, posteriormente, íntimo colaborador a Arne Tiselius, que a su vez obtuvo su premio Nobel de Química en 1948 por el descubrimiento de otro método analítico: la electroforesis.¹⁵ Un discípulo de Heidelberger, Elvin Kabat, realizó una estancia post-doctoral con Tiselius, en Uppsala, Suecia. Esta relación tuvo como resultado el descubrimiento de extraordinarias y novedosas técnicas de separación física de anticuerpos de entre todas las proteínas del suero, como el isoelectroenfoco y la inmunoelectroforesis de dos dimensiones. Tiselius y Kabat sometieron a electroforesis el suero de conejos inmunizados con albúmina de huevo y demostraron que la actividad de anticuerpo se encontraba en el tercer pico del desplazamiento electroforético de las proteínas, también conocido como pico gamma, por lo que muy pronto a los anticuerpos se les denominó gammaglobulinas.¹⁶ Cuando se llegó a conocer que ciertas globulinas del pico gamma no eran anticuerpos se introdujo el nombre de inmunoglobulinas generando así el término IgG (inmunoglobulina gamma). El análisis por ultracentrifugación estableció que las gammaglobulinas tenían un coeficiente de sedimentación de 7S, con un peso molecular de cerca de 150,000 daltons. Sin embargo, no todos los anticuerpos están en esta categoría.

A los que migraban más rápidamente al pico beta se les llamó, primeramente, β -2-macroglobulinas de γ M, ahora conocidas como IgM (inmunoglobulina macro). Estas tienen un coeficiente de sedimentación de 19S, con un peso molecular aproximado de 900,000 daltons. También se encontraron cambios en el patrón electroforético del suero a lo largo de un periodo de inmunización. Así, con la primera exposición a un antígeno se iniciaba la formación de IgM que disminuía después de unos días, al tiempo que la IgG aumentaba. Los subsecuentes contactos con el antígeno típicamente producían una misma respuesta IgM pero inmediatamente después aparecía mayor cantidad de IgG, de ahí el término “booster shot” (dosis de recuerdo).

Un hallazgo de particular importancia en las investigaciones de Tiselius y Kabat fue que los anticuerpos no eran uniformes ni en sus cargas eléctricas ni en sus coeficientes de sedimentación, lo que resultó ser el primer indicio de la heterogeneidad física de los anticuerpos.

En 1950, Tiselius recibió a quien llegaría a ser el padre de la inmunología clínica moderna, el Dr. Henry Kunkel, proveniente del Rockefeller Institute for Medical Research (hoy Rockefeller University) (Figura 1), quien llegó a Uppsala para realizar una breve estancia de investigación.

Henry George Kunkel

Henry G Kunkel nació en la ciudad de Nueva York el 9 de septiembre de 1916 y murió a la edad de 67 años en la Clínica Mayo en Rochester, Minnesota, el 14 de diciembre de 1983 después de una cirugía vascular periférica.



Figura 1. Instituto Rockefeller para la Investigación Médica. Fundado en 1901 por John D. Rockefeller. Desde 1965, cambió su nombre a Universidad Rockefeller al expandir su misión incluyendo a la educación. Veintitrés premios Nobel han sido entregados a miembros de la Universidad.

Kunkel, quien sin duda se encuentra entre los mejores científicos biomédicos e investigadores clínicos de su tiempo, era hijo de Louis Otto Kunkel, un distinguido fitopatólogo del Rockefeller Institute for Medical Research, miembro de segunda generación de la Rockefeller University. En 1953 llegó a ser miembro titular y profesor de Inmunología de la universidad y fue editor del *Journal of Experimental Medicine* desde 1965 hasta su muerte.

Tras haberse graduado como médico en Johns Hopkins, trabajó brevemente en el Bellevue Hospital en Nueva York y, en 1942, se alistó en la Marina de Estados Unidos (Figura 2). Durante la invasión de Italia por Estados Unidos, recibía incesantemente a marinos con hepatitis con lo que adquirió una vasta experiencia en el estudio de esta enfermedad. A su regreso en 1945, ingresó en el Rockefeller Institute and Hospital en Nueva York y, dada su experiencia acumulada durante el periodo de guerra, fue asignado al programa de hepatitis infecciosas de la marina, cuyo laboratorio era dirigido por Charles Hoagland. Si bien Kunkel se interesaba por estudiar el aspecto clínico de las hepatopatías, eran las anomalías bioquímicas las que realmente capturaban su atención.^{17,18,19}

Kunkel se convirtió en el jefe del laboratorio al morir catastróficamente Hoagland. En colaboración con H. Ahrens describió, por vez primera, la cirrosis biliar primaria²⁰ y, por su cuenta, un síndrome específico de mujeres jóvenes que comprendía la presencia de artritis, enfermedad hepática y característicamente hipergamaglobulinemia. Aún sabiendo que causaba enorme vergüenza y pena a Kunkel, había quienes llamaban cariñosamente a las pacientes “las chicas de Kunkel”. Su creciente fijación por las proteínas le inspiraron la creación de la Unidad de Metabolismo Proteico.



Figura 2. Henry G. Kunkel. Fotografía tomada alrededor de 1940 durante su estancia en la Marina de EUA.

Su año en Uppsala con Arne Tiselius fue un parteaguas en su carrera. Ahí descubrió su instinto por el buen uso de las herramientas y la tecnología. De hecho, asimiló toda la metodología del laboratorio de Tiselius y llegó a hacerla suya y, en ocasiones, a modificarla para hacerla más efectiva o con mejor rendimiento para sus propósitos, como la electroforesis en papel que mejoró primero con almidón y posteriormente con celulosa como sustrato.²¹

Kunkel era conocido en la Universidad por el empleo de material clínico para utilizarlo en investigación básica sobre problemas inmunológicos, pero pronto retribuía el favor recibido con el desarrollo de técnicas inmunológicas para el diagnóstico de enfermedades. A su regreso de Suecia, tenía en mente cómo resolver el análisis de la estructura de los anticuerpos. Como ya hemos mencionado, su estudio resultaba sumamente complejo debido a su heterogeneidad, lo que hacía que el planteamiento de estudios analíticos con moléculas homogéneas fuera prácticamente imposible. En 1951 realizó un descubrimiento de gran cabida y enorme alcance: en ese tiempo se consideraba que los pacientes con mieloma múltiple secretaban productos derivados de las células malignas. En una serie de experimentos de asombrosa simplicidad, empleando la técnica de inmunoprecipitación en fase sólida descrita por Örjan Ouchterlony en 1948, demostró que la elevación de proteínas en el suero de pacientes con mieloma múltiple estaba relacionada con las gammaglobulinas normales.²² Este hallazgo brindó a los inmunoquímicos la posibilidad de estudiar moléculas homogéneas para analizar y comparar e hizo posible, a la postre, la identificación de las clases de anticuerpos, las cadenas de inmunoglobulinas, sus genes y sus regiones constantes y variables.

En 1955 Kunkel y su grupo descubrieron que las proteínas del mieloma diferían antigénicamente y desarrollaron el concepto de marcadores individuales de antigenicidad específica.²³ Cuatro años después, su alumno Gerald Edelman inició la caracterización de la estructura química de los anticuerpos,²⁴ que culminó con un trabajo más desarrollado y definitivo que apareció en 1961,²⁵ firmado por el propio Edelman y Miroslav Poulík. El problema de la heterogeneidad de los anticuerpos lo tenían resuelto, *a priori*, gracias a los hallazgos de su tutor: emplearon proteínas monoclonales de pacientes con mieloma múltiple. De hecho, al año siguiente, Edelman y su alumno Joseph A Gally, siempre en el laboratorio de Kunkel, demostraron que las proteínas urinarias de Bence-Jones eran en realidad

las cadenas de bajo peso molecular de las proteínas del mieloma,²⁶ con lo que resolvieron el misterio que se había iniciado en 1845. Edelman compartió el premio Nobel de Fisiología o Medicina en 1972 con el británico Rodney Porter por sus investigaciones sobre la estructura química de los anticuerpos.

En 1963, Kunkel, Mannik y Williams encontraron que los anticuerpos humanos dirigidos contra tres diferentes antígenos eran, por sí mismos, antigénicamente únicos en conejos;²⁷ por ejemplo, los anti-anticuerpos del conejo sólo reaccionaban con los anticuerpos de una persona en particular. No eran capaces de reaccionar con anticuerpos dirigidos contra el mismo inmunógeno aislados de diferentes personas; por tanto, los idiotipos (término acuñado por el francés Jacques Oudin) son específicos de cada clona por lo que los hallazgos de 1955 en mieloma podrían expandirse ahora a todas las inmunoglobulinas.

Ciertamente hubo muchos más investigadores que participaron en la historia del mieloma múltiple⁶ pero creemos que los trabajos de Kunkel y su grupo fueron de particular relevancia para definir la naturaleza de las proteínas secretadas por células plasmáticas malignas. Quedaban aún muchos datos por aclarar, pero los principios estaban establecidos y, lo que es más, confirmados.

Los trabajos de Kunkel fueron los cimientos para dos teorías que revolucionaron la inmunología y de una técnica que ha tenido un enorme impacto en el laboratorio clínico y de investigación y, más recientemente, en la terapéutica. La percepción de Kunkel que las proteínas del mieloma (los productos monoclonales de células plasmáticas malignas) eran el equivalente de anticuerpos normales producidos por células plasmáticas normales demostró que la teoría de selección clonal de Frank Macfarlane Burnett (premio Nobel de Fisiología o Medicina en 1960) era correcta.²⁸ La identificación de la especificidad antigénica individual de los anticuerpos o idiotipos que, por definición son autoinmunogénicos, fue la base de la teoría de la red de regulación inmune de Niels Kaj Jerne (premio Nobel de Fisiología o Medicina en 1984).²⁹ Finalmente, sus hallazgos proporcionaron a la postre a George Jean Franz Köhler y César Milstein las herramientas y abordajes necesarios para la tecnología de los anticuerpos monoclonales³⁰ que les valió el premio Nobel de Fisiología o Medicina en 1984, que compartieron con Niels K Jerne.

Al repasar todos estos logros, uno debe reflexionar sobre el papel preponderante del paciente —el paciente con

mieloma, cuya expansión monoclonal de células secretoras de anticuerpos proporcionó el material experimental, las proteínas del mieloma, que condujeron a una de las más importantes contribuciones básicas de la Inmunología, la estructura química de los anticuerpos.

REFERENCIAS

- Solly S. Remarks on the pathology of mollities ossium with cases. *Medical and Chirurgical Transactions of London* 1844;27:435-461.
- Macintyre W. Case of mollities and fragilitas ossium, accompanied with urine strongly charged with animal matter. *Medical and Chirurgical Transactions of London* 1850;33:211-232.
- Bence-Jones H. On a new substance occurring in the urine of a patient with mollities ossium. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London (Biology)* 1848;55-62.
- Clamp JR. Some aspects of the first recorded case of multiple myeloma. *Lancet* 1967;2:1354-1356.
- Von Rustizky J. Multiples myelom. *Deutsche Zeitschrift für Chirurgie* 1873;3: 162-172.
- Kyle RA. Multiple myeloma: an odyssey of discovery. *Brit J Haematol* 2000; 111:1035-1044.
- Behring E, Kisato S. Ueber das Zustandekommen der Diphtherie-Immunität und der Tetanus-Immunität bei Thieren. *Deutsche Medicinische Wochenschrift* 1890;49:1113-1114.
- Ehrlich P. Experimentelle Untersuchungen ubre Immunitat. II. Ueber Abrin. *Deutsch Med Wochenschr* 1891;17:1218.
- Ehrlich P. On immunity with special reference to cell life. *Proc Roy Soc (London)* 1900;66:424-448.
- Arrhenius S. *Immunochemistry. The application of the principles of physical chemistry to the study of the biological antibodies.* New York: Macmillan, 1907.
- Landsteiner K. *The Specificity of Serological Reactions*, 1936. Baltimore, MD. 1936.
- Heidelberger M, Avery OT. The soluble specific substance of pneumococcus. *J Exp Med* 1923;38:73-79.
- Marrack JR. *The chemistry of antigens and antibodies.* Special Report Series No. 194. Medical Research Council, London, 1934.
- Svedberg T, Rinde H. The ultra-centrifuge, a new instrument for the determination of size and distribution of size of particle in amicroscopic colloids. *J Amer Chem Soc* 1924;46:2677-2793.
- Tiselius A. A new apparatus for electrophoretic analysis of colloidal mixtures. *Transactions of the Faraday Society* 1937;33:524.
- Tiselius A, Kabat EA. An electrophoretic study of immune sera and purified antibody preparations. *J Exp Med* 1939;69:119-131.
- Hoagland CL, Kunkel HG, Shank RE. An analysis of the effect of fat in the diet on recovery in infectious hepatitis. *Am J Public Health* 1946;36:1287-1292.
- Kunkel HG, Hoagland CL. Persistence of elevated values for the thymol turbidity test following infectious hepatitis. *Proc Soc Exp Biol Med* 1946;62:258-261.
- Kunkel HG, Ward SM. Plasma esterase activity in patients with liver disease and the nephrotic syndrome. *J Exp Med* 1947;86:325-337.
- Ahrens EH, Kunkel HG. The relationship between serum lipids and skin xanthomata in eighteen patients with primary biliary cirrhosis. *J Clin Invest* 1949;28:1565-1574.
- Kunkel HG, Slater R. Zone electrophoresis in a starch supporting medium. *Proc Soc Exp Biol Med* 1952;80:42-44.
- Kunkel HG, Slater R, Good RA. Relation between certain myeloma proteins and normal gamma globulin. *Proc Soc Exp Biol Med* 1951;76:190-193.
- Slater RJ, Ward SM, Kunkel HG. Immunological relationships among the myeloma proteins. *J Exp Med* 1955;101:85-108.
- Edelman GM. Dissociation of γ -globulin. *J Am Chem Soc* 1959;81:3155.
- Edelman GM, Poulik MD. Studies on structural units of the γ -globulins. *J Exp Med* 1961;113:861-884.
- Edelman GM, Gally JA. The nature of Bence-Jones proteins. Chemical similarities to polypeptide chains of myeloma globulins and normal gamma-globulins. *J Exp Med* 1962;116:207-227.
- Kunkel HG, Mannik M, Williams RC. Individual antigenic specificity of isolated antibodies. *Science* 1963;140:1218-1219.
- Burnet FM. *The clonal selection theory of acquired immunity.* Vanderbilt University Press and Cambridge University Press, 1959.
- Jerne NK. Towards a network theory of the immune system. *Ann Immunol (Inst. Pasteur)* 1974;125C:373-389.
- Khöler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975;256:495-497.

Marcadores moleculares de los síndromes mieloproliferativos

Morelis Navarro Vázquez*

RESUMEN

Las neoplasias mieloproliferativas son un conjunto de enfermedades caracterizadas por la presencia de re-arreglos genéticos o mutaciones somáticas en los genes que codifican para proteínas o receptores que están en relación con la actividad proteica cinasa en la tirosina, como el BCR/ABL, JAK 2 y RFCDP 1, confiriéndole ventaja proliferativa y supervivencia al clon neoclásico mieloide de cualquiera de sus tipos granulocítico, eritroide o megacariocítico. La leucemia mieloide crónica se caracteriza por la coexistencia de t(9;22) o cromosoma Filadelfia, cuyo marcador molecular es suficiente para que se inicie esta enfermedad y el cual puede utilizarse para la investigación de enfermedad mínima residual posterior a la terapia con blanco en la proteína quimérica resultante.

Palabras clave: marcadores moleculares, síndromes mieloproliferativos, neoplasias mieloproliferativas, BCR/ABL, JAK 2, RFCDP 1.

ABSTRACT

Myeloproliferative neoplasms are a group of diseases characterized by the presence of genetic re-arrangements or somatic mutations in the genes coding for proteins or receptors that are related to the activity protein tyrosine kinase such as BCR / ABL, JAK 2 and RFCDP 1, conferring proliferative and survival advantage to myeloid neoclassical clone whatever type granulocytic, erythroid or megacariocytic. Chronic myeloid leukemia is characterized by the coexistence of t (9; 22) or Philadelphia chromosome, which marker is sufficient to start the disease and which can be used for the investigation of minimal residual disease after therapy with white the resulting chimeric protein.

Key words: molecular markers of myeloproliferative syndromes, myeloproliferative neoplasms, BCR / ABL, JAK 2 RFCDP 1.

Los síndromes mieloproliferativos fueron descritos inicialmente, desde el punto de vista clínico e histológico, por William Dameshek en 1951, como síndromes caracterizados por la presencia de panmielosis.¹ Más tarde, en 2008, la Organización Mundial de la Salud los caracterizó como neoplasias mieloproliferativas y los definió como un conjunto de padecimientos con proliferación de un clon hematopoyético (al menos una línea: granulocítica, eritroide o megacariocítica), con alteraciones mínimas en la maduración.²

* Servicio de Hematología, Hospital Universitario de Caracas. Universitaria de Caracas, Los Chaguaramos, Caracas, Venezuela.

Correspondencia: Dr. Morelis Navarro Vázquez. Servicio de Hematología, Hospital Universitario de Caracas. Universitaria de Caracas, Los Chaguaramos, Caracas Venezuela.

Recibido: febrero, 2010. Aceptado: marzo, 2010.

Este artículo debe citarse como: Navarro-Vázquez M. Marcadores moleculares de los síndromes mieloproliferativos. Rev Hematol Mex 2010;11(3):152-155.

www.nietoeditores.com.mx

En los últimos años, el empleo de técnicas citogenéticas y moleculares ha permitido explicar la patogénesis de estos trastornos por la detección de re-arreglos moleculares y mutaciones que promueven constitutivamente la actividad cinasa en la tirosina de las proteínas de las vías de señalización intracelular, confiriéndole una ventaja proliferativa y de supervivencia al clon neoplásico.³

La leucemia mieloide crónica fue la primera de estas enfermedades en la que se observó una correlación directa entre la existencia de un oncogen quimérico y la aparición de la enfermedad.⁴ Posteriormente, el descubrimiento en 2008 de nuevas alteraciones moleculares, como las mutaciones somáticas del JAK2 (mutación V617F y del exón 12), permitió aclarar el papel preponderante que juega dicha alteración en la patogénesis del resto de las neoplasias mieloproliferativas: policitemia vera, trombocitemia esencial y mielofibrosis, aun cuando no pueda considerarse como marcador específico de ninguna de ellas.

El conocimiento de estas mutaciones ha permitido su empleo con fines diagnósticos, en la clasificación, como blanco y monitoreo terapéutico.^{5,6}

La leucemia mieloide crónica

Ha sido clásicamente descrita como una enfermedad trifásica por presentar en su evolución: una fase crónica inicial, caracterizada por esplenomegalia, proliferación mieloide con varios grados de maduración de los neutrófilos, menos de 20% de basófilos y menos de 10% de blastos; una fase intermedia o fase acelerada que cursa con un incremento de los blastos (10-19%), trombocitosis o trombocitopenia resistentes al tratamiento y, finalmente, una fase blástica o crisis blástica, caracterizada por más de 20% de blastos linfoides o mieloides.⁷ Al diagnóstico 95% de los casos tiene la t(9;22)(q34;q11.2) que da origen a un cromosoma nuevo, el cromosoma Philadelphia, descrito por Nowell y Hungerford en 1960. Este cromosoma es el producto de la traslocación balanceada y recíproca entre el gen *ABL1* (cromosoma 9) y el gen *BCR* (cromosoma 22).⁸ El gen *ABL1* pertenece a la familia de los receptores con actividad cinasa en la tirosina y el *BCR* presenta múltiples dominios funcionales, involucrados en la oligomerización y en la actividad cinasa en serina o treonina y otras. Los re-arreglos de fusión más frecuentes son el b2a2 o el b3a2, cuyos transcritos proteicos tienen un peso molecular de 210 KDa y un transcrito alternativo que ocurre en una región menor y que produce uno de 190 KDa.⁹ El producto de estas fusiones es capaz de producir la transformación maligna, ya que dicha alteración localiza al BCR/ABL en el citoesqueleto lo que hace que aumente la actividad cinasa en la tirosina por el ABL a través de las vías de señalización (RAS, RAF, STAT y otras).^{4,10}

El conocimiento de estos mecanismos permitió el desarrollo de potentes inhibidores de la actividad cinasa en la tirosina por el BCR/ABL y, con ello, frenar el proceso de leucemogénesis, manteniendo al paciente en una fase crónica controlada.^{11,12}

Los transcritos de ARN pueden determinarse por la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa reversa (RT-PCR) y cuantificarse por PCR en tiempo real (Q-PCR). Ello permite su utilización en el diagnóstico y en el monitoreo de la terapéutica inhibidora de la actividad cinasa de la tirosina (TKI) del BCR/ABL.¹³

Policitemia vera

Vázquez fue quien la describió inicialmente, en 1892, como una panmielosis con esplenomegalia, predisposición a trombosis arterial-venosa, mielofibrosis y evolución a leucemia aguda. En 1903 Osler la diferenció del resto

de enfermedades mieloproliferativas por la presencia de eritrocitosis.^{5,6} Desde el año 2005 se ha atribuido su desarrollo, en 95% de los casos, a mutaciones somáticas en el gen de las proteínas Janus (*JAK*), las cuales desencadenan auto-fosforilación constitutiva de las vías mediadas por las proteínas JAK-STAT.^{2,14} La mutación somática resulta en un cambio de nucleótido G-C por T-A en el exón 14 del *JAK2* en la posición 1.849, lo cual produce la sustitución de una valina por una fenilalanina en el codón 617, ocurriendo en el dominio pseudocinasa JH2 y produciendo auto-fosforilación, por liberación de la auto-inhibición, relacionada con el dominio JH1. La mutación clonal en estado heterocigoto u homocigoto confiere ventajas proliferativas, con independencia de factores de crecimiento, como la eritropoyetina.^{15,16} El estado heterocigoto se correlaciona con concentraciones elevadas de hemoglobina y prurito acuifero; y el estado homocigoto favorece el perfil hiperproliferativo, leucocitosis, esplenomegalia y requerimiento de terapia cito-reductora. Las mutaciones en el exón 12 del *JAK2*: N542-E543 del, F537-K539delinsL, K539L y la H538Q-K539L, descritas en el año 2007, se asocian específicamente con policitemia vera o con eritrocitosis aisladas asociadas con concentraciones séricas bajas de eritropoyetina, especialmente en jóvenes.¹⁷

La trombocitemia esencial

Es la neoplasia mieloproliferativa que involucra principalmente la línea megacariocítica. Fue descrita por Epstein y Goedel en 1934 como un estado trombocitémico no reactivo, no asociado a otra neoplasia mieloproliferativa.¹⁸ En 40-50% de los casos se ha encontrado la mutación *JAK 2* V617F, o mutaciones funcionalmente similares, y su presencia se ha relacionado con concentraciones elevadas de hemoglobina, leucocitosis, edad avanzada al diagnóstico y transformación policitémica. No se asocia con mayor riesgo de trombosis ni de transformación leucémica.¹⁹ En 1-4% de los casos se ha encontrado mutaciones somáticas activadoras, que involucran al gen *MPL*, resultando de un cambio de nucleótido G>T, en la posición 1.544, que ocasiona una sustitución de un triptófano por una leucina en el codón 515.^{19,14} Ninguna de estas mutaciones se encuentra en las trombocitosis reactivas.²⁰

La mielofibrosis primaria

Es la neoplasia mieloproliferativa caracterizada por la proliferación granulocítica y megacariocítica. La evolu-

ción de la enfermedad se asocia con depósitos de tejido conectivo fibroso en la médula ósea y con hematopoyesis extramedular. En la etapa fibrótica de la enfermedad aparece en la sangre periférica una reacción leuco-eritroblástica con dacriocitos.²¹ Desde el punto de vista molecular, no se ha asociado con ningún marcador; sin embargo, se ha observado la mutación del JAK 2 V617F en 50% de los casos, y se ha encontrado correlación entre el estado mutacional al diagnóstico y la progresión de la enfermedad,^{22,23} incluida la aparición de leucemia aguda. Este marcador sirve como estratificador de riesgo.²² El 4% de los casos se ha asociado con mutaciones somáticas activadoras del MPL (*MPL* W515K/L).¹⁴

Leucemia eosinofílica crónica y otras no específicas

En ninguna de los padecimientos se ha encontrado un marcador molecular específico, pero en ambos hay mutaciones que involucran a los genes que codifican receptores celulares, como el receptor para el factor de crecimiento derivado de las plaquetas α y el β (*PDGFR- α* y β). Estas mutaciones producen hiperactividad de las proteínas cinasas de señalización intracelular que derivan en la proliferación celular. En la LEC y las NOS, el re-arreglo más frecuente es la fusión *FIPILI-PDGFR- α* , el cual produce activación constitutiva de las proteínas cinasa en las tirosinas. La región de ruptura del *FIPILI*, es muy promiscua, mientras que el punto de ruptura en el *PDGFR- α* , se encuentra en el exón 12, en la región que codifica una zona bien conservada JM dispuesta para la unión proteína-proteína, cuyo rol es de auto-inhibición, por lo que muy probablemente la disrupción en éste dominio es el mecanismo de activación del *FIPILI-PDGFR- α* .^{14,24} El conocimiento de la función activadora de las cinasas las hace susceptibles al tratamiento con agentes inhibidores de estas proteínas. Este marcador molecular puede ser utilizado tanto en el diagnóstico como en el monitoreo terapéutico por FISH como por RCP-TR (RT-PCR).²⁵

Mastocitosis sistémica

Es la proliferación clonal de las células mastoides, las cuales se acumulan en uno o varios tejidos. En 1993, se describió una mutación somática, puntual y activadora en el gen *KIT*, (Andres C. Garcia-Montero, Maria Jara-Acevedo), en líneas celulares de leucemia de células mastoides (HMC-1), tal mutación se ha encontrado en la región yuxtapuesta al gen *KIT* (V560G) y otra en el

dominio del gen para la cinasa de la tirosina dado por la sustitución del nucleótido adenina en la posición 7176 por una timina, ocasionando un cambio de una valina por un aspartato en el codón 816 (D816V), encontrándose prácticamente en 95% de los casos de mastocitosis sistémicas.^{14,26} La mutación del *KIT* se ha observado en bajo porcentaje, sin embargo produce una activación de la cinasa de la tirosina por *KIT* independiente del ligando, lo cual la hace relativamente resistente al imatinib como inhibidor de las cinasas.²⁷

REFERENCIAS

1. Dameshek W. Some speculations on the myeloproliferative syndromes. *Blood* 1951;6:372-375.
2. Tefferi A and Vardiman J. Classification and diagnosis of myeloproliferative neoplasms: The 2008 World Health Organization criteria and point-of-care diagnostic algorithms. *Leukemia* 2008;22:14-22.
3. Hehlmann R, Hochhaus A and Baccarani M. European LeukemiaNet. Chronic myeloid leukaemia. *Lancet* 2007;370:342-350.
4. Hasserjian R. Chronic Myelogenous Leukemia. Texas. Dan Jones Houston 2010 193-211.
5. James C, Ugo V, Le Couedic JP, Staerk J, Delhommeau F, Lacout C, et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature* 2005;434:1144-1148.
6. Kralovics R, Passamonti F, Buser A, Teo S, et al. A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med* 2005;352:1779-1790.
7. Faderl S, Talpaz M, Estrov Z, O'Brien S, et al. The biology of chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 1999;341:164-172.
8. Nowell PC, Hungerford DA. A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia. *Science* 1960;132:1497.
9. Goldman J, Melo J. Chronic Myeloid Leukemia. *Advances in Biology and New Approaches to Treatment. N Engl J Med* 2003;349:1451-1464.
10. Vardiman J, Melo J, Baccarani M, Thiele J. Chronic myelogenous leukaemia, BCR-ABL 1 positive. Lyon. Swerdlow S, Campo E, Harris N, Jaffe E, Pileri S, Stein H 2008;pp:32-37.
11. Roy L, Guilhot J, Krahnke T, Guerci-Bresler A, et al. Survival advantage from imatinib compared with the combination interferon-plus cytarabine in chronic-phase chronic myelogenous leukemia: historical comparison between two phase 3 trials. *Blood* 2006;108:1478-1484.
12. Marcucci G, Perrotti D, Caligiuri M. Understanding the Molecular Basis of Imatinib Mesylate Therapy in Chronic Myelogenous Leukemia and the Related Mechanisms of Resistance. *Clin Cancer Res* 2003;9:1333-1337.
13. Hughes T, Deininger M, Hochhaus A, Branford S, et al. Monitoring CML patients responding to treatment with tyrosine kinase inhibitors: review and recommendations for harmonizing current methodology for detecting *BCR-ABL* transcripts and

- kinase domain mutations and for expressing results. *Blood* 2006;108:28-37.
14. Thiele J, Kvasnicka H, Orazi A, Tefferi A, Birgegard G. Polycythaemia vera Lyon. In: Swerdlow S, Campo E, Harris N, Jaffe E, et al. *FALTAN DATOS* 2008;pp:40-43.
 15. Tefferi A, Skoda R, Vardiman J. Myeloproliferative neoplasms: contemporary diagnosis using histology and genetics. *Nat Rev Clin Oncol* 2009;6:627-637.
 16. Chen G, Prchal J. Polycythemia vera and its molecular basis: An update. *Best Pract & Res Clin Haematol* 2006;19:387-397.
 17. Streiff M, Smith B, Spivak J. 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* 2002;99:1144-1149.
 18. Tefferi A. Essential thrombocythemia: scientific advances and current practice. *Curr Opin Hematol* 2006;13:93-98.
 19. Thiele J, Kvasnicka H, Orazi A, Tefferi A, Gisslinger H. Essential thrombocythaemia. Lyon. In: Swerdlow S, Campo E, Harris N, et al. *FALTA EL TÍTULO* 2008;pp:48-50.
 20. Antonioli E, Guglielmelli P, Pancrazzi A, Verrucci M, et al. Clinical implications of the JAK2 V617F mutation in essential thrombocythemia. *Leukemia* 2005;19:1847-1849.
 21. Thiele J, Kvasnicka H, Tefferi A, Barosi G, et al. Primary myelofibrosis. Lyon. In: Swerdlow S, Campo E, Harris N, Jaffe E, et al. *FALTAN DATOS* 2008;pp:44-47.
 22. Barosi G, Bergamaschi G, Marchetti M, et al. Splenomegaly and leukemic transformation in primary myelofibrosis JAK2 V617F mutational status predicts progression to large. *Blood* 2007;110:4030-4036.
 23. Tefferi A. Pathogenesis of myelofibrosis with myeloid metaplasia. *J Clin Oncol* 2005;23:8520-8530.
 24. Bain B, Gilliland D, Vardiman J. and Horny H. Chronic eosinophilic leukaemia not otherwise specified. Lyon. Swerdlow S, Campo E, Harris N, Jaffe E, Pileri S, Stein H 2008;pp:48-50.
 25. Tefferi A, Patnaik M and Pardanani A. Eosinophilia: secondary, clonal and idiopathic. *Br J Haematol* 2006;133:468-492.
 26. Horny H, Metcalfe D, Bennett J. and Bain B. Mastocytosis. Lyon. Swerdlow S, Campo E, Harris N, Jaffe E, Pileri S, Stein H 2008;pp:57-63.
 27. Garcia-Montero A, Jara-Acevedo A, Teodosio C, Sanchez M, Nunez R, Prados A, et al. *KIT* mutation in mast cells and other bone marrow hematopoietic cell lineages in systemic mast cell disorders: a prospective study of the Spanish Network on Mastocytosis (REMA) in a series of 113 patients. *Blood*. 2006;108:2366-2372.

El Grupo Cooperativo Latinoamericano de Hemostasia y Trombosis (CLAHT). Historia y perspectivas

Carlos Martínez-Murillo,*; * Arlette Ruiz de Saez,**; *** Carmen Luisa Arocha Piñango****

RESUMEN

El Grupo Cooperativo Latinoamericano de Hemostasia y Trombosis (CLAHT) lo fundaron, oficialmente, en 1976, varios profesionales expertos en hemostasia y trombosis. Este grupo se conformó como parte de las actividades académicas de la International Society of Hematology (ISH) y desde su integración se han incorporado 16 países y, aproximadamente, 400 miembros. El Grupo Cooperativo Latinoamericano de Hemostasia y Trombosis realiza congresos cada dos años, en diversos países de la región, en donde promueve el conocimiento de los trastornos hemorrágicos y trombóticos. Este grupo ha consolidado diversos comités de trabajo en distintas áreas, entre los que destacan: hemofilia, enfermedad de von Willebrand, trombofilia, anticoagulantes, etc. El Grupo Cooperativo Latinoamericano de Hemostasia y Trombosis tiene un pasado valioso; sin embargo, se vislumbra un futuro prometedor con la incorporación de nuevas generaciones que seguramente continuarán con el legado profesional.

Palabras clave: hemostasia, trombosis, Grupo Cooperativo Latinoamericano de Hemostasia y Trombosis, CLAHT

ABSTRACT

The CLAHT Group was officially founded in 1976 by a group of experts in the area of hemostasis and thrombosis, this group was established within the academic activities of the ISH (International Society of Hematology). Currently the CLAHT is integrated by 16 countries and approximately 400 members. The CLAHT does congress every two years in various countries of the region by promoting knowledge in bleeding and thrombotic disorders also established various committees in several areas, among them, hemophilia, von Willebrand disease, thrombophilia, anticoagulant, etc. The CLAHT has a long history, however, sees a promising future with the introduction of new generations that will surely continue with the professional legacy.

Key words: hemostasia, thrombosis, CLAHT.

La iniciativa de los médicos para conformar grupos de trabajo nace de la necesidad de fortalecer el conocimiento científico, difundir ideas y enriquecer el quehacer profesional. Como profesionales de la

salud existe la prioridad de dar a conocer la experiencia adquirida en el tratamiento de pacientes, y el resultado de las investigaciones realizadas en el campo básico y clínico.

El Grupo Cooperativo Latinoamericano de Hemostasia y Trombosis (CLAHT) es en la actualidad una organización sólidamente constituida con representantes en los diferentes países de América Latina, lo que le da el carácter de organización latinoamericana. En el siguiente Cuadro se incluyen los nombres de los representantes actuales de cada país en el CLAHT.

Historia

Los inicios

El Grupo CLAHT se constituyó luego de las Primeras Jornadas Latinoamericanas de Trabajos Cooperativos en Hematología efectuadas en La Habana, Cuba, en el año de 1973, con el patrocinio de la Organización Panamericana de la Salud (OPS) y de la División Interamericana de la

* Servicio de Hematología del Hospital General de México (México).

** Coordinación de UMAE.

*** Banco Municipal de Sangre, Caracas, Venezuela.

**** Grupo Cooperativo Latinoamericano de Hemostasia y Trombosis (CLAHT), Caracas, Venezuela.

Correspondencia: Servicio de Hematología del Hospital General de México. Dr. Balmis 148, colonia Doctores, México, DF. Correo electrónico: carlosmtzmurillo@gmail.com
www.hematonews.org

Recibido: mayo, 2010. Aceptado: junio, 2010.

Este artículo debe citarse como: Martínez-Murillo J, Ruiz de Saez A, Arocha Piñango CL. El Grupo Cooperativo Latinoamericano de Hemostasia y Trombosis (CLAHT). Historia y perspectivas. Rev Hematol Mex 2010;11(3):156-160.

www.nietoeditores.com.mx

<i>País</i>	<i>Representante</i>
Argentina	Alicia Blanco
Bolivia	José Carlos Abecia Navarro
Brasil	Joao Carlos de Campos Guerra
Chile	Jaime Pereira Garcés
Colombia	Maria Nelly
Costa Rica	Rafael Jiménez Bonilla
Cuba	Luisa Pérez Pérez
Ecuador	Mercy Maldonado
El Salvador	Ana Gladis Mancía de Reyes
México	Jaime García Chávez
Panamá	Bélgica Moreno
Paraguay	Paula A. Amante de Guggiari
Perú	Saúl Mendoza Ordoñez
República Dominicana	Rosa Nieves Paulino
Uruguay	Cecilia Carrizo
Venezuela	Apsara Boadas de Sánchez

Sociedad Internacional de Hematología (*ISH- International Society of Hematology*), así como con el apoyo del Ministerio de Salud Pública de Cuba.

A esas Jornadas asistieron delegados de diferentes países latinoamericanos. Sus objetivos fueron: relacionar a todos los grupos latinoamericanos de trabajo en Hematología e iniciar actividades tendientes a elevar el nivel de conocimientos de esta disciplina y estimular el desarrollo de trabajos cooperativos. En esa ocasión, Delfina Almagro, de Cuba, tuvo un papel histórico muy importante y trascendental en la creación del Grupo de Hemostasia, debido a su tendencia profesional hacia los problemas de hemostasia y trombosis.

En sus inicios el CLAHT tuvo el aval de la Organización Panamericana de la Salud, de la International Society of Hematology y el Ministerio de Salud de Cuba, pero sobre todo de la iniciativa e interés de un grupo de expertos en Hemostasia y Trombosis.

El nacimiento de la organización

La primera reunión del Grupo CLAHT se efectuó en la Ciudad de México, en 1975, y fue organizada por su primer Coordinador, Javier Pizzutto Chávez. El doctor Pizzutto siempre fue un promotor y generador de conocimientos en el campo de la Hemostasia y Trombosis; de hecho, él

fue quien consolidó una de las principales escuelas en México en esta área.

En el seno de esta reunión se establecieron las bases organizativas del Grupo, donde 13 destacados hematólogos provenientes de seis países latinoamericanos, sentaron las bases para constituir el Grupo CLAHT. Por Argentina asistieron a esa primera reunión: Raúl Altman, Adela Martínez-Canaveri, Eduardo Sack y Miguel Pavlovsky; por Brasil: Celso de Campos Guerra; por Colombia: Jorge Maldonado; por Cuba: Delfina Almagro; por México: Samuel Dorantes y Javier Pizzutto Chávez; por Venezuela: Carmen Luisa Arocha-Piñango, Carlos Goldstein, Francisco Ruiz y José Luis Pérez Requejo.

De acuerdo con las actas oficiales del CLAHT, la fundación sucedió el 14 de julio de 1975 y, a petición del doctor Maldonado de Colombia, se nombró a Pizzutto primer coordinador y se nombraron tres coordinadores asociados: Maldonado, Dorantes y Sack. (Figura 1)

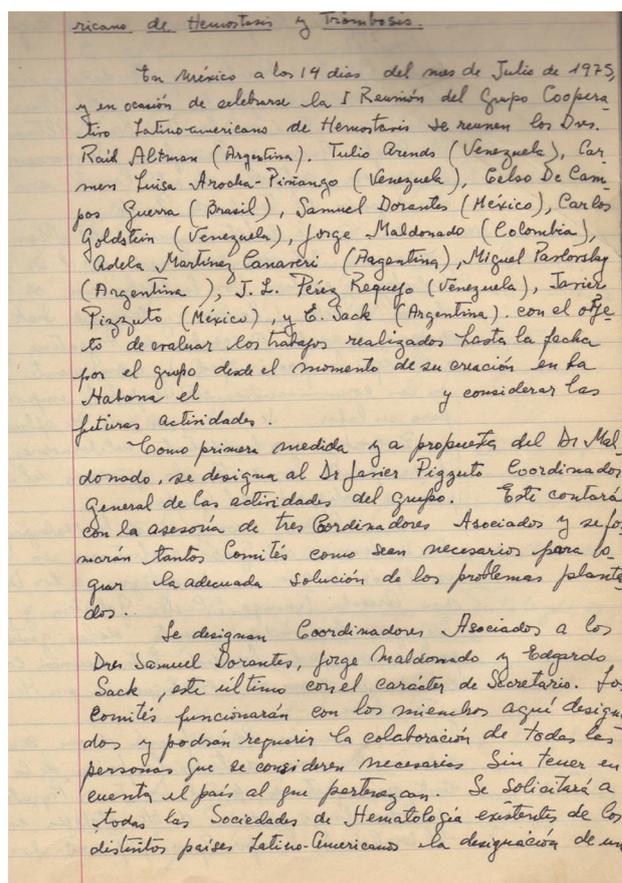


Figura 1. Copia de la primera hoja del acta constitutiva del Grupo CLAHT en 1975, Ciudad de México.

En esa misma reunión se estructuró la formación de diferentes comités de trabajo: Comité de Reactivos y Estandarización, Comité de Elaboración del Manual de Técnicas y Comité organizador de la II Reunión del Grupo CLAHT, en Venezuela. Asimismo, Miguel Pavlovsky propuso la creación del logo del CLAHT y se comentó que debía mencionarse que fue fundado por la División Interamericana del ISH.

Una de las primeras actividades del grupo recién formado fue la elaboración y publicación de un libro que recogiera las técnicas de laboratorio más usadas en los problemas de coagulación; incluso, se definió la cantidad de libros a difundir en cada país.

En 1976 se celebró la II Reunión del Grupo CLAHT, en la ciudad de Caracas, Venezuela, con la organización a cargo de: Carmen Luisa Arocha-Piñango y José Luis Pérez Requejo. En esa reunión se hizo la fundación legal del Grupo CLAHT. Asistieron a esa reunión: Raúl Altman, A Martínez Canaveri, M Plavloski, J Pizzuto, S Dorantes, J Maldonado, C Campos Guerra, C Goldstein, JL Pérez Requejo, T Arends y CL Arocha-Piñango. Posteriormente se incorporaron: JC Sánchez-Ávalos, L Kordich y M Lazari, de Argentina; Delfina Almagro de Cuba; R Jiménez y Roberto Cordero Morillo, de Costa Rica; D Saavedra y J Restrepo, de Colombia; R Rodríguez Erdman, de México; A Cañizares, de Ecuador; A Castillo, de Perú; Norma de Bosch, A. Cova, D Curiel, MP Diez y F Ruiz, de Venezuela; S Brandalise, de Brasil.

Esa reunión podría considerarse como la consolidación del Grupo. En ella se preparó el Acta Constitutiva y se registró, oficialmente, el Grupo con las Siglas GRUPO CLAHT. Se establecieron los Reglamentos.

Se propuso que, junto con la publicación del *Manual de Técnicas* se publicara un libro sobre *Clínica de Hemostasia y Trombosis*, coordinado por J. Pizzuto.

Se propusieron diferentes protocolos de estudios cooperativos y se designaron sus coordinadores.

A. Martínez Canaveri (Argentina): Estandarización de tromboplastinas (sugerido en la reunión anterior).

S Brandalise(Brasil): Coagulación intravascular diseminada.

J Pizzuto (México): Profilaxis de trombosis venosa.

R Altman (Argentina): Prevención del reinfarto.

N Bosch (Venezuela): Epidemiología de la hemofilia.

Se realizó el primer Curso de Actualización, en el que intervinieron invitados de Estados Unidos.

Se designaron los coordinadores de cada país y se escogieron las ciudades para las próximas reuniones anuales.

La consolidación del CLAHT

Desde su nacimiento, el Grupo CLAHT lo integraron profesionistas dotados de un gran interés y capacidad para el trabajo, y con una visión integradora con el propósito de ser incluyentes y contar con la representatividad de la mayoría de los países de América Latina. En cada reunión se sumaron más miembros y nuevos países, esto debido a la calidad del trabajo de la organización que, gracias a ello, fortaleció su presencia en América Latina.

Las reuniones del Grupo CLAHT siguieron realizándose cada año en diferentes países latinoamericanos, siempre con un curso de actualización y presentación de trabajos. Surgió, entonces, la necesidad y posibilidad de publicar un libro sobre la fisiopatología y clínica de las enfermedades hemorrágicas y trombóticas. Ese libro *Hemorragia y trombosis*, fue editado en 1981, en la Ciudad de México, por los doctores Samuel Dorantes Mesa y Javier Pizzuto, con la colaboración de hematólogos de diversos países.

Los encuentros del Grupo CLAHT siguieron año con año hasta 1981 y, desde entonces, cada dos años. Esto ha permitido conservar la unión y amistad de sus miembros, que han aumentado progresivamente en los años recientes, lo que ha favorecido el intercambio de ideas, la actualización de sus conocimientos, y el estímulo del interés de profesionales jóvenes en este campo de la hematología.

Desde su origen, en 1975, el Grupo CLAHT se ha reunido en diferentes ciudades: de México, 1975; Caracas, 1976; Medellín, 1977; Guaraya, 1978; Lima, 1979; Iguazú, 1980; San José, 1981. Por razones de costo se decidió que la realización de las Reuniones fuera cada dos años. Montevideo, 1982; Río de Janeiro, 1985; Cumana, 1987; Belo Horizonte, 1989; Buenos Aires, 1991; San José, 1993; Punta del Este, 1995; Santo Domingo, 1997; Lima, 1999; Ciudad de México, 2001; Río de Janeiro, 2003; Viña del Mar, 2005; Buenos Aires, 2007; Isla de Margarita, 2009; y Montevideo, 2011.

En 1983 se decidió que las reuniones se convirtieran en Congresos. Además, se estableció que cada dos años se realicen Cursos de Actualización y Simposios en diferentes países. En ese mismo año se estableció la relación con la Liga Mediterránea contra la Enfermedad Tromboembólica, Sociedad Española de Hemostasia y Trombosis (SEHT) y Liga del Danubio.

Mesas Directivas

El primer Coordinador del Grupo CLAHT fue Javier Pizzuto, de México. En 1980 se nombró una nueva Junta Directiva con Raúl Altman como Coordinador General y la F Molinas, como Secretaria.

En 1989 se creó la Secretaría Científica a cargo de A. Blanco.

En 1993 se nombró nueva Junta Directiva con Carmen Luisa Arocha-Piñango como Coordinadora General y A. Ruíz-Sáez como Secretaria.

A partir de 1997 las Juntas Directivas se han removido cada cuatro años, de la manera siguiente:

- 1997-2001: AM Otero (Presidente) y JE Novoa (Secretario), de Uruguay.
- 2001- 2005: JL Pérez Requejo (Presidente) y A Boadas de Sánchez (Secretaria), de Venezuela.
- 2005-2009: L Kordich (Presidenta) de Argentina y E Elisa (Secretaria) de Uruguay.
- 2009-2013: A Ruiz de Sáez (Presidente) y M Echezagucia (Secretaria) de Venezuela.

Logros del CLAHT

Ediciones de libros

Desde su fundación, uno de los objetivos del Grupo CLAHT es la difusión del conocimiento a través de libros, como el *Manual de técnicas de hemostasia y trombosis*, que se editó en 1976. Posteriormente, en 1981 se publicó el libro: *Hemorragia y trombosis*. Sin embargo, la gran diversidad de técnicas para el estudio de la hemostasia aparecidas en los últimos años, planteó la necesidad de reeditar el *Manual de técnicas de hemostasia y trombosis*; para eso, el Grupo CLAHT designó, en 1985, un consejo editor, que estudiaría su factibilidad y coordinaría la publicación, que se concretó en el *Manual de hemostasia y trombosis*, del que en 1990 apareció la segunda edición. Este libro se hizo con la colaboración del Comité de Redacción de *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*.

Revista de Hemostasia

Junto con la Sociedad española de hemostasia y trombosis, la *Revista Iberoamericana de Hemostasia y Trombosis* se constituyó en el órgano oficial del Grupo CLAHT, lo que permitió contar con un sitio científico para publicar el conocimiento generado en América Latina, y los trabajos libres de los diferentes congresos del CLAHT. Por desgracia, esa revista ya no existe, y con ella se perdió un

foro de discusión científica; sin embargo, es momento de reflexionar en la generación de una revista latinoamericana de hemostasia y trombosis.

Nexos con Sociedades Médicas

Las relaciones con la Liga Mediterránea, Liga del Danubio y Sociedad Española de Hemostasia y Trombosis (SEHT), que al principio fueron de tipo amistoso, en 1995 se oficializaron con convenios escritos. Con esos convenios se logró que a los congresos de las distintas sociedades se invitaran como conferencistas a miembros de cada una de esas asociaciones y, viceversa, que hubiera representantes del CLAHT en los congresos de las distintas sociedades.

Se establecieron estrechos vínculos con la Sociedad Internacional de Hemostasia y Trombosis (ISTH) misma que en la actualidad patrocina cursos y simposios en diferentes países, en ellos participan como conferencistas miembros del CLAHT y de países fuera del área. Se han efectuado ocho cursos de actualización en: Colombia, Paraguay, Bolivia, Cuba, Venezuela y ocho simposios en: Buenos Aires, Uruguay, Cuba, Perú y se han programado nuevos en Paraguay y El Salvador y en los simposios organizados, en conjunto, con la ISTH.

Se nombraron socios honorarios al profesor A. López Borrasca y Justo Aznar de España y Uri Selighson de Israel, por su estrecha relación y colaboración con el Grupo.

Capacitación de profesionales

Uno de sus objetivos originales del CLAHT es la formación de recursos humanos capacitados en el área, a efecto de lograr una uniformidad en el conocimiento regional; por ello han existido diferentes intercambios internacionales avalado por el CLAHT, lo que ha fomentado el conocimiento científico.

Comités de expertos

Con el propósito de hacer más dinámico, versátil e incluyente al grupo, se crearon los Comités de Expertos que, hasta ahora, continúan:

- 1) Laboratorio de hemostasia y aseguramiento de calidad,
- 2) Comunicaciones y revistas,
- 3) Alteraciones plaquetarias,
- 4) Enfermedad de Von Willebrand,
- 5) Hemofilia,
- 6) Terapia Antitrombótica,
- 7) Enfermedad tromboembólica venosa,
- 8) Trombofilia hereditaria,
- 9) Trombofilia y embazo,
- 10) Anticuerpos antifosfolípidos,
- 11) Educación,
- 12) Farmacoeconomía.

La labor realizada por el Grupo CLAHT ha sido muy prolífica y ha dado a la especialidad un área prominente en Latinoamérica y ha contribuido a la formación de nuevos especialistas. Nuestro crecimiento ha sido tal que los cinco países que en 1975 iniciamos el Grupo con 13 miembros, hoy reúne a 16 países y a 432 miembros.

Nuestra labor es reconocida por la Comunidad Internacional. El doctor Raúl Altman fue condecorado con la Orden de Caballero Cristóbal Colon en la República Dominicana. Algunos miembros del CLAHT: R. Altman, CL Arocha-Piñango se han incorporado a Subcomités Científicos de la Sociedad Internacional de Hemostasia y Trombosis (ISTH) y A Blanco de Argentina ha sido nominada para el ISTH.

El presente reciente del CLAHT

En la actualidad, el Grupo CLAHT es una organización sólidamente constituida y con representación en más de 16 países de América Latina. Gracias a esta diversidad cultural y científica, el CLAHT tiene una fuerte presencia científica en la región, lo que le ha valido ser considerada un grupo líder de opinión en el campo de la hemostasia y trombosis en el mundo. Se han obtenido logros importantes debido al sinergismo de los países y de profesionistas; sin embargo, debido a su pasado prodigioso se vislumbra un futuro muy prometedor en el campo de la hemostasia y

trombosis con las nuevas generaciones que se están incorporando con gran dinamismo a la organización.

Un logro reciente del CLAHT es haber nombrado una mesa directiva que ha inoculado en el grupo una urgente y necesaria democratización, y dinamismo al reactivar y actualizar los diferentes comités de trabajo que constituyen la base del conocimiento del CLAHT. Sin embargo, el grupo CLAHT requiere seguir contando con la indispensable participación de sus fundadores y de las nuevas generaciones para seguir fungiendo como pilar indispensable en la generación de conocimientos de Hemostasia y Trombosis.

Definitivamente, gran reto tienen nuestra líder actual, la presidenta del Grupo CLAHT Arlette Ruíz de Saez de Venezuela y los subsecuentes coordinadores en conjuntar la diversidad de ideas, consensarlas y tomar la mejor decisión por el bien de todos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Acta constitutiva del Grupo CLAHT. Venezuela 1976.
2. Sánchez Avalos JC. Historia del Grupo Cooperativo Latinoamericano de Hemostasia y Trombosis. *Acta Bioquim Clin Latinoam* 2006;40(3):1-4.
3. Pérez-Requejo JL. Discurso de apertura del Congreso de Chile, Viña del Mar. *Memorias del Congreso de Chile*, 2005.
4. Comunicaciones personales.