

11218
2
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
CENTRO MEDICO NACIONAL "LA RAZA"
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

"PUBLICACIONES EN HEMATOLOGIA"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA EN LA ESPECIALIDAD DE
H E M A T O L O G I A
P R E S E N T A

DR. ENRIQUE GOMEZ MORALES

ASESOR: DR. JOSE E. GONZALEZ LLAVEN



0270784
480420

MEXICO, D. F.

1999

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

SIN

PAGINACION

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
CENTRO MÉDICO NACIONAL "LA RAZA"
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**

"PUBLICACIONES EN HEMATOLOGÍA"

TESIS

Que para obtener el Diploma en la Especialidad de

HEMATOLOGÍA

PRESENTA

DR. ENRIQUE GÓMEZ MORALES

ASESOR

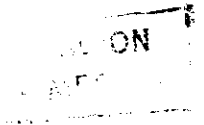
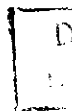
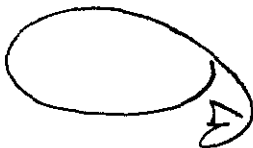
DR. JOSÉ E. GONZÁLEZ LLAVEN

NOVIEMBRE DE 1998.

DR. JOSÉ E. GONZALEZ LLAVEN

Jefe del Servicio de Hematología del Hospital de Especialidades
del Centro Médico Nacional "LA RAZA"

Profesor Titular del Curso de Posgrado en Hematología
Asesor de Tesis



DR. ARTURO ROBLES PARAMO

Jefe de Enseñanza e Investigación del Hospital de Especialidades
del Centro Médico Nacional "LA RAZA".

DEDICATORIA.

Con todo cariño para Elizabeth, mi esposa, quien comparte conmigo día a día, con ella cada momento representa un reto diferente, por su afán de superación, ejemplo, constancia, paciencia y comprensión; por su enorme calidad humana y profesional, gracias por ayudarme a mejorar.

Para María Elizabeth, Patricio Sebastián y Monica Daniela, mis hijos que con su sonrisa y esperanza me estimulan para esforzarme por hacer del ahora un mejor presente.

Con amor para mi madre y hermanos por su apoyo.

Con afecto para mis familiares.

Gracias a mis profesores y condiscípulos por sus consejos y enseñanzas.

Gracias a Dios por darme esta vida.



Tratamiento de la hemoglobinuria paroxística nocturna con globulina antilinfocitaria

*Elizabeth Sánchez-Valle

*Manuel R. Morales-Polanco

*Enrique Gómez-Morales

*Laura I. Gutiérrez-Alamillo

*Guillermo Gutiérrez-Espíndola

*Javier Pizzuto-Chávez

Resumen estructurado

Objetivo. Evaluar la utilidad de la globulina antilinfocitos T humanos (GAL) en el tratamiento de la hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN).

Diseño. Estudio prospectivo, no controlado de casos clínicos.

Ubicación. Servicio de Hematología, Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, México.

Pacientes. Se incluyeron seis pacientes, tres varones y tres mujeres con edad promedio de 37.5 años. El diagnóstico de HPN se estableció por datos clínicos y pruebas de Ham, sucrosa e inulina positivas. Se consideró grave en cuatro enfermos en virtud de su actividad hemolítica continua e intensa, y los requerimientos transfusionales altos (más de dos concentrados de hemáties por mes); cinco de ellos no habían tenido mejoría con esteroides y/o andrógenos; uno no tenía tratamiento previo.

Intervención. Se aplicó GAL (Lymphoglobuline Mérieux, Lyon, Francia; Lote E 0034) 10 mg/kg/día por cuatro días, en infusión de 20 horas; también recibieron metilprednisolona, 500 mg/día, en infusión de dos horas cambiando, al cabo de siete días, a prednisona de 1 mg/kg y en dosis decrecientes hasta suspenderla en 30 días.

Criterios de respuesta. Se valoró por medio del aumento en el nivel de hemoglobina, la disminución o ausencia en los requerimientos transfusionales de

glóbulos rojos, y la mejoría de la cuenta de plaquetas, granulocitos o ambas, en los tres meses posteriores al tratamiento con GAL.

Resultados. En dos enfermos la primera dosis de GAL provocó una reacción anafiláctica y fueron excluidos del estudio. De los cuatro enfermos restantes, sólo dos mostraron respuesta a las 12 semanas post-tratamiento, uno total y otro mínima; ambas respuestas fueron transitorias. En un seguimiento promedio de 12.5 meses, ninguno de los pacientes mostraba mejoría. En los cuatro sujetos hubo necesidad de reiniciar tratamiento en danazol y prednisona.

Conclusiones. En pacientes con HPN en actividad intensa, la terapéutica con GAL, en las dosis y tiempo dados, no ofreció ningún beneficio. En consecuencia, se deben buscar otras alternativas para tratar a estos enfermos.

Palabras clave: Hemoglobinuria paroxística nocturna, Globulina antilinfocitaria.

ANTILYMPHOCYTE GLOBULIN THERAPY FOR PAROXYSMAL NOCTURNAL HEMOGLOBINURIA.

Structured Abstract

Objective. To evaluate the effectiveness of antilymphocyte globulin therapy (ALG) in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH).

* Servicio de Hematología, Hospital de Especialidades "Dr. Bernardo Sepúlveda", Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social, México, D.F.

Solicitud de reimpresos: Manuel R. Morales-Polanco, Servicio de Hematología, Hospital de Especialidades "Dr. Bernardo Sepúlveda", Centro Médico Nacional, Siglo XXI, IMSS, Avenida Cuauhtémoc No. 330, Col. Doctores, 06725, México, D.F.

Recibido el 22 de enero de 1993. Aceptado para publicación el 21 de julio de 1993.

Design. Prospective, non-controlled trial.

Setting. Hematology Service, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, Mexico City.

Patients. Six patients were included. The median age was 37.5 years and the male/female ratio was 1:1. All the patients had clinical disease consistent with PNH (hemolytic anemia with some degree of transient or persistent pancytopenia) and also erythrocytes with enhanced sensitivity to complement mediated lysis *in vitro*, as documented by either the Ham test or the sucrose lysis assay. The criterion for severity was the existence of continuous hemolysis in all and transfusion requirements of two or more packed red cells per month in four cases. Prior to ALG therapy, androgens and/or steroids had been given to five patients with no improvement.

Intervention. A single batch of ALG was used during the trial (E 0034, Lymphoglobulin Mérieux, Lyon, France). Patients received an infusion of 10 mg/kg per day in a 20 hours lapse during four consecutive days. Also 500 mg/day of methylprednisolone were started simultaneously with the ALG; it was given for seven days and was gradually tapered off and stopped on day 30.

Measurements. The increases in hemoglobin, granulocytes and/or platelets as well as decreases in red cell transfusion requirements were used to evaluate the results of therapy.

Results. Two patients suffered anaphylaxis after the first administration of ALG and were withdrawn from the study. Two of the four remaining patients responded, one response was total and the other minimal. The responses were transient, and no response was seen in the follow-up of 11-14 months.

Conclusion. ALG therapy for PNH in the doses and time periods used by us had no beneficial effect in patients with a severe form of PNH.

Keywords: Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, Antilymphocyte globulin therapy.

Introducción

En la actualidad se reconoce que la hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN) resulta de la expansión de una clona hematopoyética anormal que coexiste con cierto grado de hematopoyesis normal. Sus manifestaciones clínicas se deben a las anomalías cualitativas de la

población clonal, pero también al número reducido de células sanguíneas normales.¹

Las células sanguíneas de la clona anormal de HPN carecen de varias proteínas, entre ellas, las que regulan la activación del complemento en la superficie celular, especialmente las proteínas denominadas factor acelerador del decaimiento (CD 55), el inhibidor de membrana de la lisis reactiva (CD 59) y el factor de restricción homólogo. El primero inhibe la formación y facilita la disociación de las convertasas de la fracción C3 del complemento, y las segundas limitan la formación del complejo de destrucción de la membrana. Su ausencia aumenta la susceptibilidad de los glóbulos rojos a la lisis por el complemento y la activación plaquetaria, lo que provoca tendencia a las trombosis.^{2,3}

A la fecha no existe ningún tratamiento definitivo para esta enfermedad. Los andrógenos producen mejoría leves y transitorias, especialmente en aquéllos con cierto grado de hipoplasia medular, pero producen efectos adversos, sobre todo de toxicidad hepática.^{4,5} Los corticoesteroides administrados en un régimen de día alternos en dos series de 18 y 19 pacientes, suprimieron la hemólisis en 66 y 58% de los casos, respectivamente;⁶ sin embargo, las dosis requeridas son altas y por tiempo prolongado, lo cual produce efectos secundarios importantes, como aumentar la susceptibilidad a las infecciones graves. Por otra parte, los pacientes con médula ósea (MO) hipoplásica es poco probable que mejoren con los esteroides a menos que se utilice un estimulante eritropoyético.⁴ También se ha utilizado el danazol con el que se ha observado elevación transitoria de las concentraciones de hemoglobina (Hb) pero sin modificación de las otras citopenias, como ocurre también con las terapéuticas antes mencionadas.⁷ Parte importante del tratamiento son las transfusiones de concentrados de glóbulos rojos. Estas a su vez pueden producir, entre otras complicaciones, crisis hemolíticas,⁸ hemosiderosis,⁹ infecciones por virus B y C de la hepatitis o por VIH,^{10,11} así como sensibilización a los antígenos eritrocitarios y leucocitarios. Todo ello limita su administración y eficacia en individuos cuya supervivencia depende de un programa transfusional eficiente.

En los casos en que la hipoplasia de la MO es la manifestación predominante, el trasplante de MO se ha empleado con éxito.¹² Sin embargo, por la estricta selección de los pacientes, la escasez de

Tabla 1. Características de los pacientes con HPN tratados con GAL

No.	Edad/Sexo	Años Dx	Tx Previo	Transfusiones de CE (U) Pre/Post	Hemoglobina (g/dL) Pre/Post	Neutrófilos (10 ⁹ /L) Pre/Post	Plaquetas (10 ⁹ /L) Pre/Post	Reticulocitos (%) [*] Pre/Post	DHL (U/dL) Pre/Post
1	37/F	13	DNZ-PDN	144/12	6.9/8.8	1.7/2.1	92/100	4.9/3.0	2243/2282
2	30/M	4	DNZ-PDN	2/-	10.8/12.1	5.6/4.0	59/170	7.2/4.9	2483/1287
3	51/F	16	OXM	52/14	9.4/8.3	3.6/4.0	100/168	12.3/5.9	921/2920
4	25/F	3	DNZ-PDN	49/6	9.6/10.4	3.2/2.0	197/200	7.0/6.3	1961/1770
5	56/M	0.5	-	6	8.2	2.8	186	6.0	2002
6	26/M	0.8	DNZ-PDN	20	9.2	2.3	61	14.0	1588

HPN = hemoglobinuria paroxística nocturna; GAL = globulina antilinfocitaria; Años Dx = tiempo de evolución desde el diagnóstico; Tx previo = tratamiento previo; CE = concentrado eritrocitario; Pre = previo al tratamiento con GAL; Post = a los tres meses del tratamiento con GAL; DNZ = danazol; PDN = prednisona; OXM = oximetolona; ^{*}reticulocitos corregidos por hematocrito; DHL = deshidrogenasa láctica.

donadores, el costo y las complicaciones inherentes al procedimiento, éste no es un tratamiento disponible para todos los enfermos y la experiencia terapéutica del mismo aun es limitada.

Considerando todo lo anterior, y con base en los resultados favorables de control de citopenias en un grupo de 13 pacientes con HPN tratados por Huang y colaboradores¹¹ con globulina antilinfocitos T humanos (GAL) en un pequeño grupo de enfermos con HPN refractaria a tratamiento con esteroides, andrógenos o ambos. El informe de los resultados de su aplicación constituye el motivo de la presente comunicación.

Material y métodos

El estudio se realizó entre julio y octubre de 1991; fue prospectivo, sin controles, e incluyó a seis pacientes con diagnóstico de HPN, de acuerdo con el cuadro clínico y corroborado por las pruebas de Ham, sucrosa e inulina. Tres eran del sexo masculino y tres del sexo femenino, con promedio de edad de 37.5 años, y con un tiempo de evolución promedio de 6.2 años. Una enferma tuvo anemia aplásica 16 años antes de su inclusión en el presente estudio, y durante los últimos tres años de evolución, mostró positividad progresivamente reciente de las pruebas de HPN en sus eritrocitos. Todos tenían anemia, reticulocitosis y deshidrogenasa láctica (DHL) muy elevada (promedio 1920 U/dL). El tiempo de evolución, el tratamiento previo, los requerimientos transfusionales y la citometría hemática al inicio del

estudio se muestran en la tabla 1. En todos, el aspirado de MO mostró contenido celular aumentado al 100%, demostrándose hiperplasia eritroide con maduración megaloblástica, y sin dishemopoyesis en las series hematopoyéticas restantes. En ningún caso se realizó estudio de la biopsia del hueso.

Se consideró HPN de evolución grave por haber una actividad hemolítica continua e intensa en los seis pacientes; cuatro de ellos tenían requerimientos transfusionales elevados (más de dos unidades de concentrados de eritrocitos por mes); cinco casos mostraron ausencia de mejoría con andrógenos y esteroides, y un paciente no había recibido tratamiento.

Previo consentimiento por escrito, los seis pacientes recibieron GAL (Lymphoglobuline Mérieux; Lyon, Francia; lote E 0034). A todos los enfermos se les aplicó, como dosis de prueba, 20 mg de GAL diluida en 100 mL de solución salina en infusión de una hora; si al término de la misma no mostraban intolerancia o datos de choque anafiláctico, recibían enseguida el resto de la dosis del día. En todos los enfermos la dosis de prueba resultó negativa.

La GAL se administró a razón de 10 mg/kg/día durante cuatro días. La dosis diaria de GAL se diluyó en 500 mL de solución salina isotónica y se aplicó por vía intravenosa en un lapso de 20 horas. Antes de cada aplicación de GAL, los pacientes recibieron 500 mg de metilprednisolona diluidos en 250 mL de solución glucosada al 5% en un lapso de dos horas. La dosis del corticosteroide se redujo progresivamente; se cambió a la vía oral por

prednisona para suspenderla al cabo de 30 días. Durante el tratamiento los pacientes tomaron, de manera profiláctica, ciprofloxacina, ketoconazol y colitorios de nistatina.

La respuesta se valoró a las 12 semanas de suspendida la GAL, de acuerdo con los siguientes criterios:

1. Respuesta completa: hemoglobina ≥ 12 g/dL sin transfusiones; plaquetas $\geq 150 \times 10^9/L$ y neutrófilos totales $\geq 1.9 \times 10^9/L$.
2. Respuesta parcial: cese de los requerimientos transfusionales e incremento de una o más de las citopenias originalmente identificadas.
3. Respuesta mínima: disminución de los requerimientos transfusionales, sin modificación de las citopenias iniciales.
4. Fracaso: sin respuesta.

Resultados

De los seis enfermos, dos (No. 5 y 6, tabla 1) presentaron reacción anafiláctica inmediata en la primera dosis, consistente en síndrome febril e hipotensión que no mejoraron con la aplicación de esteroides y antihistamínicos; en ambos se discontinuó el tratamiento. El enfermo No. 5 presentó sepsis consecutiva a un proceso neumónico, y posteriormente falla orgánica múltiple que lo llevó a la muerte. El otro paciente (No. 6) reinició tratamiento con prednisona 20 mg/día y danazol a dosis de 600 mg/día.

Cuatro pacientes fueron evaluables (Nos. 1 a 4): dos tuvieron, como efecto colateral de la GAL, síndrome febril en el primer día de tratamiento que fue controlado con acetaminofén y antihistamínicos. En los otros dos no hubo efectos adversos. Ningún paciente ameritó transfusión de plaquetas por púrpura, o por aparición de trombocitopenia intensa, durante los días de aplicación de la GAL.

A las 12 semanas, la valoración mostró respuesta completa en el paciente No. 2, y respuesta mínima en el No. 3. En ambos la mejoría fue transitoria: al cabo de 5 y 6 meses, respectivamente, habían recaído. En los dos sujetos restantes hubo persistencia de la actividad de la HPN (tabla 1) sin modificación de los requerimientos transfusionales. A los 12.5 meses de seguimiento promedio (oscilación 11 a 14) no se observó mejoría en ninguno, y en los cuatro pacientes hubo necesidad de reiniciar tratamiento con danazol y prednisona.

No se realizó nuevo estudio de la médula ósea en el período posterior al tratamiento con GAL.

Discusión

Se sabe que la HPN es el resultado de un defecto en las proteínas de la membrana del eritrocito sujetas a su porción lipídica por un glucolípidio que contiene fosfatidil-inositol. Lo anterior produce una sensibilidad anormal de las células a la activación del complemento, lo que a su vez da lugar a la destrucción de eritrocitos y de leucocitos polimorfonucleares y plaquetas.

El problema planteado por Young¹⁴ acerca de cómo este defecto de la membrana podía explicar la pobre proliferación de los progenitores hematopoyéticos normales en los pacientes con HPN, originó una hipótesis fundamentada en el hecho de que varias proteínas del sistema inmune también son afectadas por el defecto HPN, entre ellas, el receptor Fc tipo III de los neutrófilos para IgG (CD 16), el antígeno de los monocitos (CD 14) y el antígeno 3 asociado a la función de los linfocitos. Este se une a la glucoproteína CD 2 de los linfocitos T y su función es la de servir de mediador en la adhesión de los linfocitos citotóxicos a las células blanco. La pérdida de este antígeno en algunas de las células estaminales hematopoyéticas durante un ataque inmune desencadenado en forma inespecífica por virus, fármacos o radiación ionizante, podría ser un agente selectivo que favoreciera la emergencia de clones HPN, dando así lugar a la aparición de una enfermedad producida por mecanismos inmunes. Lo anterior está de acuerdo con la observación de que, para que la clona HPN pueda proliferar pese a que son células vulnerables al ataque por el complemento, se necesita también que las células hematopoyéticas normales, por sí mismas, sean incapaces de crecer normalmente.¹⁵

Por otro lado, existe una relación fisiopatogénica entre anemia aplásica (AA) y HPN; ello es evidente por la evolución clínica de una hacia la otra y viceversa,^{16,17} y por la mejoría, hasta en 60% de los enfermos de AA, después del tratamiento con GAL,¹⁸ o de mejoría en casos aislados de HPN o del síndrome HPN/AA.^{19,21} Todo ello parece justificar el tratamiento inmunosupresor con GAL en pacientes con HPN y citopenias.

En el presente estudio se trató a enfermos con actividad clínica intensa de la HPN (tabla 1), con

una o más citopenias periféricas, y que habían sido resistentes a los tratamientos habituales de la misma. Con las dosis de GAL empleadas y el tiempo de tratamiento utilizados, sólo se observó respuesta favorable transitoria en dos de los cuatro casos valorables. Lo anterior contrasta con el 85% de éxito informado en los pacientes de la serie de Huang y colaboradores¹³ ya anteriormente referida. Tal diferencia podría ser consecuencia de las dosis utilizadas en ambos estudios (15 mg/kg/día de ellos versus 10 mg/kg/día nuestra). La que utilizamos en el presente trabajo se recomienda como suficientemente inmunosupresora, dada su actividad específica de 42.5 U citotóxicas/mg.²² Sin embargo, la actividad específica (actividad citotóxica/concentración) varía incluso de lote a lote en un mismo producto. A mayor abundamiento, Kawano y colaboradores²³ demostraron, en cuatro lotes de GAL de orígenes distintos, que tenían efecto mitogénico variable y por tanto, diferente capacidad para liberar factores de crecimiento hematopoyéticos. Todo lo anterior pudiera explicar las diferencias en los porcentajes de respuesta obtenida en el trabajo de Huang¹³ y el presente estudio.

De acuerdo con este trabajo, sólo podemos hacer ver que la GAL, en las dosis y por el tiempo utilizados, ofreció mejoría transitoria en dos pacientes y además, facilitó la aparición de complicaciones importantes, incluso fatales. Por ello consideramos que no ofrece ninguna ventaja sobre los tratamientos tradicionales de la enfermedad. Lo anterior puede servir como referencia para continuar la búsqueda de un mejor tratamiento que permita, sobre todo, disminuir los requerimientos transfusionales de enfermos, como los incluidos en el presente estudio, y evitar sus complicaciones.

Referencias

- Rotoli B, Luzzato L. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Semin Hematol* 1989;26:201-7.
- Rosse WF. Phosphatidylinositol-linked proteins and paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 1990;75:1595-601.
- Yamasina M, Ueda E, Kinoshita T, Takami T, Ojima A, Ono H, et al. Inherited complete deficiency of 20-kilodalton homologous factor (CD 59) as cause of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med* 1990;323:1184-9.
- Ammus SS. The role of androgens in the treatment of hematologic disorders. *Adv Intern Med* 1989;34:191-208.
- Rosse WF. Treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 1982;60:20-3.
- Issaragrisil S, Piankijagum A, Tang-naitrisorana Y. Corticosteroids therapy in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Am J Hematol* 1987;27:77-83.
- Murakawa M, Shibuya T, Harada M, Okamura T, Asano Y, Okamura H, et al. Danazol treatment for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Jpn J Med* 1990;29:417-22.
- Rosse WF. Transfusion in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. To wash or not to wash? *Transfusion* 1989;29:663-4.
- Schafer AI, Cheron RC, Dluhy R, Cooper B, Gleason DE, Soeldner JS, et al. Clinical consequences of acquired transfusional iron overload in adults. *N Engl J Med* 1981;304:319-25.
- Dood RY. The risk of transfusion transmitted infection. *N Engl J Med* 1992;327:419-21.
- Carson JL, Russell LB, Taragin MI, Sonnenberg FA, Duff AE, Bauer S. The risks of blood transfusion: the relative influence of acquired immunodeficiency syndrome and non-A, non-B hepatitis. *Am J Med* 1992;92:45-52.
- Kawara K, Whilterspoon RP, Storb R. Marrow transplantation for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Am J Hematol* 1992;39:283-8.
- Huang AT, Rosse WF, Moore JQ, Gockerman J, Crawford J, Pinella TJ, et al. The use of antithymocyte globulin (ATG) in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) with marrow hypoplasia. *Blood* 1990;76(suppl 1):35.
- Young NS. The problem of clonality in aplastic anemia: Dr Dameshek's riddle restated. *Blood* 1992;79:1385-92.
- Editorial. Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Lancet* 1992;339:395-6.
- Lewis SM, Dacie JV. The aplastic anaemia-paroxysmal nocturnal haemoglobinuria syndrome. *Br J Haematol* 1967;13:236-51.
- Conrad ME, Barton JC. The aplastic anaemia paroxysmal hemoglobinuria syndrome. *Am J Hematol* 1979;7:61-7.
- Hunter RF, Huang AT. Antithymocyte globulin: a realistic approach to therapy for severe aplastic anemia. *South Med J* 1986;79:1121-25.
- Young N, Griffith P, Brittain E, Eifenbein G, Gardner F, Huang A, et al. A multicenter trial of antithymocyte globulin in aplastic anemia and related diseases. *Blood* 1988;72:1861-9.
- Kusminsky GD, Barazzutti L, Korin JD, Blasetti A, Tartas NE, Avalos JCS. Complete response to antilymphocyte globulin in a case of aplastic anemia-paroxysmal nocturnal hemoglobinuria syndrome. *Am J Hematol* 1988;29:133.
- Ware RE, Hall SE, Rosse WF. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria with onset in childhood and adolescence. *N Engl J Med* 1991;325:991-6.
- Marsh JCW, Hows JM, Bryett KA, Al-Hashimi S, Fairhead SM, Gordon-Smith EC. Survival after antilymphocyte globulin therapy for aplastic anemia depends on disease severity. *Blood* 1987;70:1046-52.
- Kawano Y, Nissen C, Gratzwohl A, Speck B. Immunostimulatory effects of different antilymphocyte globulin preparations: a possible clue to their clinical effect. *Br J Haematol* 1988;68:115-9.

Niveles séricos de eritropoyetina en sujetos sanos estudiados en el valle de México

Manuel R Morales-Polanco,* Susana Guerrero-Rivera,* Elizabeth Sánchez-Valle,*
Enrique Gómez-Morales,* Felipe Gordon-Barabęjzyk,** Malva Mejía-Arregui,***
Oliva Rosales-Orozco**

Resumen

La eritropoyetina (EPO) es el factor humoral directamente responsable de la eritropoyesis, y su secreción se relaciona con el grado de oxigenación tisular. En altitudes por arriba del nivel del mar, las concentraciones de oxígeno son menores, lo que podría influir en los niveles séricos de EPO y de esta manera explicar el aumento de las cifras de hemoglobina y hematócrito. Por otro lado, la determinación de sus niveles sanguíneos es de gran importancia tanto en el diagnóstico diferencial de las anemias, como en el estudio de la eritrocitosis, en especial la policitemia rubra vera, enfermedad en que sus niveles son normales o bajos. Por tal motivo estimamos conveniente determinar las cifras que podrían ser consideradas como valores de referencia en población residente en la ciudad de México.

Se estudió un total de 220 sujetos sanos, 168 hombres y 52 mujeres. Los niveles de EPO sérica, determinados por radioinmunoanálisis resultaron, en todo el grupo, con una mediana (Md) de 7.5 mU/ml, con un intervalo percentilar, (IP) de 1 a 18; en el sexo masculino la Md fue de 7.6 con un IP de 1 a 18 y en el sexo femenino Md de 7.5 con un IP de 1 a 16.9.

No se encontraron diferencias con los valores de referencia informados en otras poblaciones.

Palabras clave: Eritropoyetina, valores normales

Summary

Erythropoietin (EPO) is the hematopoietic growth factor that regulates red cell production. There is a direct relationship between its secretion and tissue hypoxia.

Above sea level, oxygen concentration diminishes. This causes an increase of hemoglobin and hematocrit; this effect could be the consequence of higher EPO levels. Currently, evaluation of baseline serum EPO levels is very important in the differential diagnosis of anemia and erythrocytosis.

The purpose of the present work was to report the EPO levels on a group of healthy blood donors living in Mexico City, 2,240 m above sea level. Two-hundred twenty blood donors were selected to measure serum EPO; there were 168 males and 52 females. Median EPO levels of the entire population were 7.5 mU/mL (percentile interval, PI, 1-18). Median EPO levels were 7.6 (PI 1-18) and 7.5 (PI 1-16.9) for men and women, respectively. We did not find differences in serum EPO levels among previous reports in other populations and the values determined in this study.

Key words: Erythropoietin, normal values

* Servicio de Hematología, Hospital de Especialidades "Bernardo Sepúlveda".

** Medicina Nuclear, Hospital de Especialidades "Bernardo Sepúlveda".

*** Banco Central de Sangre.

Todos los autores son del Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social.

Correspondencia y solicitud de sobretiros: Manuel R. Morales-Polanco, Pregonero 70, Colina del Sur, México, D.F.; C.P. 01430.

Teléfono: 602 554-3 y 588 79 86; Fax 578 0407.

Introducción

En el ser humano, la eritropoyetina (EPO) es el factor estimulante del crecimiento hematopoyético que regula la producción de eritrocitos, como tal, es el elemento fundamental para recuperar la masa eritrocitaria cuando ésta disminuye por cualquier razón.¹

La mayor parte de la EPO sanguínea se produce en el riñón, cantidades pequeñas se forman en el hígado y en los macrófagos de la médula ósea (MO)²⁻⁴ y la hipoxemia es el estímulo más importante para aumentar su síntesis.⁵⁻⁷ La EPO actúa junto con otros factores de crecimiento hematopoyéticos como la IL-3 y el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (FEC-GM), para estimular la proliferación y maduración de los progenitores eritroides en la MO.¹ Es por ello que la disminución o aumento de sus niveles, modifica también la actividad eritropoyética de este tejido y su cuantificación es de suma utilidad para el diagnóstico diferencial entre las diversas causas de anemia y de eritrocitosis. Además, sus niveles séricos deben ser considerados en vista de la aplicación terapéutica de la EPO recombinante humana (EPO-rh) en diversas enfermedades.^{8,9}

Por lo anterior, es necesario contar con cifras de referencia, ya que tales valores pueden variar según la población que se estudia y de acuerdo a la altitud en la que se localiza su hábitat. Hasta el momento no hay un estudio que valore las cifras de referencia de EPO relacionada con los índices eritrocitarios, niveles de ferritina, folatos y vitamina B₁₂, que podrían influir en ellas. Con base a lo anterior se realizó el presente trabajo con el fin de establecer los valores de referencia de EPO en individuos sanos, residentes en la ciudad de México.

Material y métodos

Los individuos que participaron en la prueba para determinación de los niveles séricos de EPO, en el presente estudio, fueron sujetos adultos sanos de ambos sexos, que acudieron del 27 al 30 de junio de 1994 en calidad de donadores voluntarios al Banco Central de Sangre del Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS. Para su inclusión se tomaron en cuenta los siguientes requisitos:

1. Edad mínima de 18 años y máxima de 55.
2. Peso corporal \geq 50 kg.
3. En los seis meses previos al estudio, no haber tenido enfermedad febril de más de ocho días de duración, hemorragia de cualquier etiología o haber donado sangre o sus fracciones.
4. Examen médico normal.
5. Ausencia de embarazo.
6. Residir en la ciudad de México por lo menos durante el último año y haber permanecido en la misma los últimos 15 días.
7. Nivel de hemoglobina (Hb), hematócrito (Ht) e índices eritrocitarios tales como volumen corpuscular medio (VCM), y concentración de Hb corpuscular media (CMHC) normales, de acuerdo con valores previamente determinados.¹⁰

La obtención de la muestra de sangre para cuantificar los valores sanguíneos de la fórmula roja y niveles séricos de EPO, ferritina, vitamina B₁₂ y ácido fólico, se realizó mediante punción venosa, removiendo el torniquete del brazo del sujeto para colectar inmediatamente después, 10 ml de sangre con anticoagulante EDTA.

Los índices eritrocitarios fueron procesados en una máquina contadora de células tipo Cell - Dyn 3000 (Unipath) modelo CD 3000 DT, en las primeras cuatro horas del mismo día de obtención de la muestra sanguínea.

Para la determinación de la EPO, ferritina, vitamina B₁₂ y folatos sanguíneos, el suero se conservó a $< 20^{\circ}\text{C}$ hasta el momento de procesarlo.

La cuantificación de la EPO se realizó mediante radioinmunoanálisis (RIA), empleando un equipo comercial que utiliza reactivos obtenidos por tecnología recombinante (DSL-1100 *Erythropoietin Double Antibody RIA Kit* de *Diagnostic Systems Laboratories*, Webster, Texas, EUA). Con este equipo, la EPO inmunorreactiva del suero se correlaciona bien con la EPO biológicamente activa.¹¹ Con el fin de corroborar la presencia de niveles normales de hierro, ácido fólico y vitamina B₁₂, se realizaron éstos en los primeros 80 pacientes. Las determinaciones de ferritina se efectuaron también mediante RIA con un equipo Kodak Ferritin RIA Kit (*Kodak Clinical Diagnostics LTD, Amersham UK*) y las de ácido fólico y vitamina B₁₂ con el Kodak Vitamin B₁₂/Folate Dual RIA Kit (*Kodak Clinical Diagnostics LTD, Amersham UK*).

El estudio estadístico fue de tipo descriptivo con base en mediana y percentila¹² (2.5 y 97.5), para definir los valores de referencia.

Resultados

Del total de 220 individuos valorados, 168 fueron hombres y 52 mujeres; la media de la edad fue de 31 ± 10 años. El valor medio de la Hb fue de 15.9 ± 1.23 gr/dl; el del Hto 0.47 ± 0.03 , y el del VCM de 89.28 ± 2.7 fl. El promedio del valor de ferritina fue de 153.17 ng/ml, de la vitamina B₁₂ 446.42 pg/ml, y del ácido fólico, 3.01 ng/ml.

Los niveles de EPO del suero, en todo el grupo presentaron una mediana (Md) de 7.5 mU/ml (Figura 1), con un intervalo percentilar (IP) de 1 a 18. En el sexo masculino una Md de 7.6 mU/ml con un IP de 1 a 18 y en el sexo femenino con un Md de 7.5 mU/ml con IP de 1 a 16.9.

Discusión

La determinación de los valores de la EPO ha sido facilitada por la disponibilidad de métodos como el de RIA^{11,13} empleado en el presente trabajo. A diferencia de los métodos biológicos, este procedimiento permite determinar cantidades muy pequeñas de la EPO, con mayor sensibilidad y especificidad.^{14,15}

La importancia de la determinación de los niveles sanguíneos de EPO reside en que su cuantificación es útil en el diagnóstico diferencial de diversas patologías;¹⁶ por ejemplo, los valores de EPO arriba de lo normal, son propios de los estados en que existe un estímulo para la eritropoyesis. Significan en general, una respuesta adecuada en secreción, liberación y activación de la EPO.^{9,17} Tal es el caso de los enfermos con anemia aplásica, anemias carenciales, hemolíticas y en los síndromes mielodisplásicos.^{11,18-22} También sirve, como índice de referencia en el estudio tanto de la eritrocitosis primaria, en la que se encuentra disminuida, como en la secundaria, en la que se halla aumentada.²³

La EPO del suero disminuye o está ausente en pacientes con insuficiencia renal crónica, anemia relacionada al cáncer, enfermedades infecciosas e

inflamatorias crónicas,^{6,24,25} condiciones en las que la anemia, puede mejorar con la aplicación de EPO rH.^{9,17}

En la ciudad de México, situada a 2,240 m sobre el nivel del mar, no existe información sobre los niveles séricos de EPO. Lo anterior es interesante porque se sabe que al menos los valores de referencia de la fórmula roja, varían de acuerdo con la altura de residencia de la población estudiada.²⁶

Los valores de EPO informados han sido variables de 9.2 mU/ml (límite 2 - 43.5) para hombres y 10 mU/ml (límite 4.1-34.8) para mujeres.¹⁵ Fischl y colaboradores²⁷ así como Miller y colaboradores,¹⁶ utilizaron como valor de referencia las determinaciones por RIA efectuados por los laboratorios Smith Kline Bioscience, Van Nuys, California, cuyo resultado fue de 4-26 UI/L. El valor de referencia determinado por el laboratorio R&D systems por RIA en suero y en plasma fueron de 3.3-16.6 mU/ml y 3.1-14.9.²⁸ Sus determinaciones las hicieron en 123 sujetos normales residentes en el área de St Paul/Minneapolis, Minnesota a 500 m sobre el nivel del mar. Su distribución en cuanto a frecuencia de valores, fue similar a la obtenida en el presente trabajo (Figura 1). Los estudios antes mencionados incluyeron para la cuantificación únicamente sujetos catalogados como sanos, sin mencionar otras características que pudieran influir en los niveles de eritropoyetina como son Hb, Hto o valores de vitamina B₁₂, folatos o hierro.^{29,30}

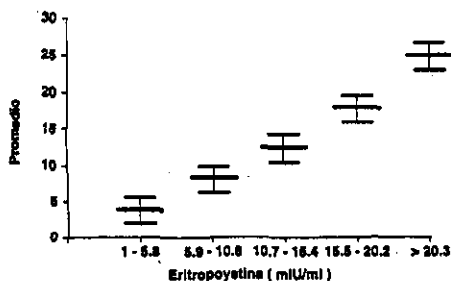


Figura 1. Eritropoyetina sérica (mU/ml) en sujetos sanos residentes en la ciudad de México.

En conclusión, los valores de EPO determinados en el presente trabajo resultaron semejantes a los informados en la literatura, sin diferencias en cuanto al sexo ni el lugar de residencia, por lo menos en comparación con los sujetos estudiados a 500m sobre el nivel del mar. Los resultados anteriores, aunque sugieren que no existe relación entre los niveles de EPO y la altitud sobre el nivel del mar en la que se estudian los sujetos, justifican la realización de otros estudios en esta área.

Agradecimiento

Al doctor Juan Talavera por su colaboración en el estudio estadístico del trabajo.

Referencias

1. Jelkman W. Erythropoietin: structure, control of production and function. *Physiol Rev* 1992;72(2):449-89
2. Maxwell AP, Lappin TR, Johnston FC, Bridges JM, McGeown GM. Erythropoietin production in kidney tubular cells. *Br J Haematol* 1990;74:535-39
3. Rich IN, Helt W, Kubanek B. Extrarenal erythropoietin production by macrophages. *Blood* 1982;60:1007-1017.
4. Fried W. The liver as a source of extrarenal erythropoietin. *Blood* 1972;40:671-77.
5. Quick J, Eichenberger A, Binawanger V. Stimulation of erythropoietin in renal insufficiency by hypobaric hypoxia. *Nephrol-Dial-Transplant* 1992;7(10):1002-08
6. Thorling E, Erelav A. The tissue tension of oxygen and its relation to hematocrit and erythropoiesis. *Blood* 1988;31:332.
7. Faquin WC, Schneider TJ, Goldberg MA. Effect of inflammatory cytokines on hypoxia-induced erythropoietin production. *Blood* 1992;79: 1987-94.
8. Eschbach JW, Egri JC, *et al.* Correction of the anemia of end-stage renal disease with recombinant human erythropoietin. *N Engl J Med* 1987;316:73-8.
9. Markham A, Bryson HM. Erythropoietin alfa. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic use in nonrenal applications. *Drugs* 1995;49:233-54.
10. Ruiz-Argüelles GJ, Sánchez-Medial L, Loria A. Red cell indices in normal adults residing at altitudes from sea level to 2670 meters. *Am J Hematol* 1980;8:265-271.
11. Sherwood J, Goldwasser E. A radioimmunoassay for erythropoietin. *Blood* 1979;54:885-93.
12. Dawson-Sander B, Trapp GR. *Biostatística Médica*. 1ra Ed Manual Moderno, México, 1993.
13. Cotes PM, Doré JC, Yin JL, Lewis Mycol. Determination of serum immunoreactive erythropoietin in the investigation of erythrocytosis. *N Engl J Med* 1986;315:263-86.
14. Spivak JL, Hogans BB. Clinical evaluation of radioimmunoassay for serum erythropoietin using reagents derived from recombinant erythropoietin. *Blood* 1986;70:143 (Abstract)
15. EPO. Radioimmunoassay Kit for the Quantitative Measurement of Erythropoietin in Serum or Plasma. Catalog No. DSL 1100. Diagnostic Systems Laboratories Inc. Webster, Texas 77598.
16. Miller ME, Chandra M, García FJ. Clinical applications of measurement of serum immunoreactive level of erythropoietin. *Ann NY Acad Sci* 1985;459:375-81.
17. Dunn CJ, Markham A. Epoetin Beta. A Review of its Pharmacological Properties and Clinical Use in the Management of anaemia associated with Chronic Renal Failure. *Drugs* 1996;51:299-318.
18. Bowen DT, Jacobs A, Cotes MP, Lewis TC. Serum erythropoietin and erythropoiesis in patients with myelodysplastic syndromes. *Eur J Haematol* 1990;44:30-32.
19. Kerum MC, Fisher JW. Serum erythropoietin concentrations in patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer* 1988; 58:2485-2488.
20. Da Silva JL, Lacombe C, Bruneval P, *et al.* Tumor cells are the site of erythropoietin synthesis in human renal cancers associated with polycythemia. *Blood* 1990; 75: 577-581.
21. Trimble M, Caro J, Tallala A, Brain M. Secondary erythrocytosis due to cerebellar hemangioblastoma: Demonstration of erythropoietin in RNA in the tumor. *Blood* 1991;78:599-601.
22. Dreicer R, Donovan JA, *et al.* Paraneoplastic erythrocytosis in a young adult with an erythropoietin producing Wilim's tumor. *Am J Med* 1992;93:229-230.
23. Gruppo Italiano Studio Policitemia. Polycythemia Vera: The natural history of 1213 patients followed for 20 years. *Ann Intern Med* 1995;123:656-64.
24. Spivak J, Barnes RJ, Fuchs E, Quinn T, *et al.* Serum Immunoreactive erythropoietin in HIV-infected patients. *JAMA* 1989;261(21):3104-3107.
25. Miller CB, Jones RJ, Piantadoel S, *et al.* Decreased erythropoietin response in patients with the anemia of cancer. *N Engl J Med* 1990;322:1689-1692.
26. Pledras J, Loria A, Galván I. Red Blood Cell Indices in a High altitude hospital population. *Arch Med Res* 1995;26(1):65-68.
27. Fischl M, Galpin J, Levine J. Recombinant Human Erythropoietin for patients with Aids treated with zidovudine. *N Engl J Med* 1990;322:1488-1493.
28. Erythropoietin. Quantikine in vitro diagnostic Immunoassay R&D Systems. 614 McKinley Place N.E. Minneapolis, MN 55413 USA.
29. Zachee P, Chew SL, Daelemans R, Lins RL. Erythropoietin resistance due to vitamin B12 deficiency. Case report and retrospective analysis of B12 levels after erythropoietin treatment. *Am J Nephrol* 1992;12(3):188-191.
30. Skine BS, Cook JD. Effect of enhance erythropoiesis on iron absorption *J Lab Clin Med* 1992;120(5):746-751.

Cinco episodios de anemia aplástica transitoria en tres enfermos

*Javier Pizzuto-Chávez
*Enrique Gómez-Morales
*Elizabeth Sánchez-Valle
*Gabriel Chávez-Sánchez
*Manuel R. Morales-Polanco

FIVE EPISODES OF TRANSIENT APLASTIC ANEMIA IN THREE PATIENTS

Abstract

We report five episodes of severe aplastic anemia (AA) followed by spontaneous remission in three patients. They were classified as transient aplastic anemia (TAA). Two were females and one male of 32, 56 and 41 years of age, respectively; the man had two recurrences. They had been in contact with insecticides, solvents or drug ingestion. The three had fever, anemia and muco-cutaneous purpura. Supportive measures were used (transfusion of packed red blood cells and platelets, antibiotics, corticosteroids and danazol, the latter two given for ten days in three episodes). They showed spontaneous remission after 16 to 45 days of evolution. The patients did not suffer infection or myeloproliferative disorders which might explain the AA. Transient AA is infrequent and should be considered a variant of AA.

Keywords. *Transient aplastic anemia. Aplastic anemia. Spontaneous remission.*

Resumen

Se informan cinco episodios de anemia aplástica (AA) grave en tres enfermos, dos mujeres y un varón, de 32, 56, y 41 años de edad, respectivamente, el último con tres episodios. Fueron relacionados con exposición a insecticidas, solventes y fármacos (trimetoprim con sulfametoxazol, pirimetamina y derivados de pirazonas). Acudieron con padecimiento de dos semanas de evolución con anemia, púrpura mucocutánea y en tres episodios fiebre. Como tratamiento en tres casos se utilizó prednisona y danazol por 10 días, así como antibióticos. En todos los casos se observó recuperación espontánea al cabo de 16 a 45 días que no se correlacionó con infección viral, hemoglobinopatía o evidencia de proceso mieloproliferativo. Se diagnosticaron como AA transitoria, variante de la AA con recuperación temprana y completa de la hematopoyesis.

Palabras clave. *Anemia aplástica. Remisión espontánea. Anemia aplástica transitoria.*

* Departamento de Hematología, Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI. Instituto Mexicano del Seguro Social. México. Correspondencia: Dr. Enrique Gómez Morales Adolfo Prieto 617-101. Col. Del Valle 03100 México D.F.

Recibido el 14 de diciembre de 1993 y aceptado el 26 de marzo de 1997.

Cuadro 1. Datos de los 3 pacientes.

	1	2	3		
Edad	32	56	41		
Sexo	Femenino	Femenino	Masculino		
Episodios	1	1	3		
Posible etiología	Trimetoprim-Sulfametaxazol Pirimetamina Insecticidas	Pirazolonas	Insecticidas	Insecticidas	Solventes
Fiebre	Si	Si	No	No	Si
Citología hemática Reticulocitos corregidos	0.3	0.2	0.3	0.5	0.4
Neutrófilos N/ μ L	330	0	90	160	54
Plaquetas $\times 10^9$ /L	1	76	15	46	29
Biopsia % celularidad	30	30	5	5	5
Días evolución	14	14	14	7	14
Días recuperación	16	20	30	45	45
Años seguimiento	4	4	5	5	5

y en los otros la anemia y la trombocitopenia fueron leves. A diferencia de lo referido por otros,⁸ nuestros pacientes no mostraron relación con infección viral y salvo en la enferma que recibió derivados de pirazolona, tampoco la hubo con fármacos. En todos la recuperación fue menor a 90 días.

El daño en MO por insecticidas y solventes provoca AA crónica de difícil control,⁹ y por ello sorprende la respuesta en corto tiempo y sin secuelas en nuestros casos 1 y 3. Nuestro tratamiento no pareció influir en la respuesta, ya que los anabólicos son útiles sólo en pacientes con AA leve y después de tres a cuatro meses de administración ininterrumpida.⁴ Creemos que la AA transitoria parece ser una variante de la AA verdadera y que tiene una presentación súbita, con citopenias no muy intensas y en la que el único elemento distintivo es la recuperación temprana y completa de las células afectadas. Su diagnóstico puede resultar difícil por su baja frecuencia.

Referencias

1. The International Agranulocytosis and Aplastic Anemia Study. Incidence of aplastic anemia. The relevance of diagnosis criteria. *Blood* 1987; 70:1718-21.
2. Abdou NI, Verdriame JD, Amare M, Abdou NL. Heterogeneity of pathogenic mechanisms in aplastic anemia. Efficacy of therapy based on in vitro results. *Ann Intern Med* 1981; 95:43-50.
3. Thomas ED, Storb R. Acquired severe aplastic anemia: Progress and perplexity. *Blood* 1984; 64:325-8.
4. Nissen C, Gratwohl A, Speck B. Management of aplastic anemia. *Eur J Haematol* 1991; 46:193-7.
5. Keisu M, Heit W, Lambertenghi-Delliers C, Parcels-Kelly J, Pollack A, Heimpel H. Transient pancytopenia. *Blut* 1990; 61:240-4.
6. Marsh JCW, Hows JM, Bryett KA, Al-Hashimi S, Fairhead SM, Gordon-Smith EC. Survival after antilymphocyte globulin therapy for aplastic anemia depends on disease severity. *Blood* 1987; 70:1046-52.
7. Mir MA, Geary CG. Aplastic anemia: an analysis of 174 patients. *Post Med J* 1980; 56:322-9.
8. Young N, Mortimer P. Viruses and bone marrow failure. *Blood* 1984; 63:729-37.
9. Rugman FP, Cosstick R. Aplastic anemia associated with organochlorine pesticide: case reports and review of evidence. *J Clin Pathol* 1990; 43:98-101.

Instructivo a los autores

La RIC sigue los lineamientos del International Committee of Medical Journal Editors en sus versiones cuarta (New Engl J Med 1991; 324:424-8) o quinta (JAMA 1993; 269:2282-6). Hay versiones traducidas en la RIC (1992; 44:475-82) (1993; 45:537-44). Los resúmenes estructurados se detallan en la RIC (1989; 41:303-7). Los requerimientos peculiares a la RIC son:

1. NUMERO de manuscritos: TRES.
2. IDIOMAS aceptables: español e inglés.
3. TIPO y longitud de artículos:

—Originales: hasta unas 1500 palabras: 20-30 referencias, y cuadros más figuras en número igual a la mitad menos uno de páginas de texto a doble espacio (v. gr. 4 cuadros + figuras para 10 páginas). Pueden ser informes de nuevos síndromes o enfermedades; de aspectos etiológicos; de experiencias clínicas; de ensayos terapéuticos; de investigación epidemiológica o metodológica; y de estudios básicos con repercusión en la clínica.

—Comunicaciones breves: hasta unas 750 palabras, 10 referencias y dos tablas + figuras. Los temas son similares a los de artículos originales pero con información preliminar o sólo sugerente.

—Caso clínico: con extensión similar a la de artículos breves. Puede ampliarse si involucra a más de un solo caso.

—Actualización o revisión: hasta unas 6 mil palabras. *Enjuiciamiento detallado y crítico de experiencias relevantes a la clínica o de tópicos básicos con relevancia real o potencial en la clínica.*

—Cartas a los editores: hasta unas 400 palabras, unas 5 referencias y sin tablas ni figuras. La RIC se

reserva el derecho de acortarlas y/o eliminar las partes de agresión a nivel personal si las hubiere. Las cartas podrán ser enviadas a los autores del artículo motivo de la carta para que aparezcan carta y respuesta de los autores una a continuación de la otra.

4. SECCIONES que deben tener los artículos originales (cada sección se inicia en nueva página): (1) página con título, nombres completos y adscripciones, y título abreviado; (2) resumen con palabras clave; (3) abstract con título en inglés y "keywords"; (4) introducción; (5) material y métodos; (6) resultados; (7) discusión; (8) agradecimientos; (9) referencias con el formato Vancouver del comité internacional; (10) tablas (una por página); (11) pies de figura (puede ir en una sola página).

Secciones de otro tipo de manuscritos: (a) breves similar a originales pero más concisos; (b) caso clínico puede tener formato diferente a originales en incisos 4 a 7; (c) actualización/revisión puede carecer de incisos 4 a 7; (d) cartas con formato libre. Se recomienda hacer RESUMEN ESTRUCTURADO.

5. TEXTO a doble espacio, márgenes de 2.5 cm en lados y extremos. Figuras en láser o en fotografía brillante sin o con el menor texto posible (poner texto en pie de figura).

El instructivo completo aparece en el Vol. 45, No. 6, 1993: 537-44 y en el Vol. 46, No. 6 1994: 507-13.

Original Article**Cytogenetic Findings in 303 Mexican Patients with *De Novo* Acute Myeloblastic Leukemia**

ROSA MARIA ARANA-TREJO,* ENRIQUE GOMEZ-MORALES,** MA. EUGENIA RUBIO-BORJA,*** JUAN JULIO KASSACK-IPÍÑA,**** ALICIA CERVANTES-PEREDO,* SUSANA GUERRERO-RIVERA,** JOSE GONZALEZ-LAVEN,*** MARIO GUTIERREZ-ROMERO,**** JAVIER PIZZUTO-CHAVEZ,** and SUSANA KOFMAN-ALFARO*

* Departamento de Genética, Hospital General de México SSA, México, D.F.

** Servicio de Hematología del Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, México, D.F.

*** Departamento de Hematología, Hospital de Especialidades, Centro Médico "La Raza", México, D.F.

**** Departamento de Hematología, Hospital General de México SSA, México, D.F.

Received for publication October 9, 1996; accepted March 4, 1997 (96/253).

Abstract

In this report we show the chromosomal changes seen in a group of 303 Mexican patients with *de novo* Acute Myeloblastic Leukemia (AML). Two hundred forty-two patients were diagnosed and treated at two hospitals affiliated with the Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS). These are the Centro Médico Nacional Siglo XXI and Centro Médico La Raza Hospitals; the remaining 61 patients were diagnosed and treated at the Hospital General de México (HGM). Clonal abnormalities were detected in 75.6% of the patients; this result agrees with what has been reported in other large series of AML studies. The incidence of changes per hospital was similar in patients from the IMSS hospitals (72-75%), while an increase was seen in patients from the HGM (85.2%). The chromosomal changes seen in this study in order of frequency were:

t(15;17)[18.8%], t(9;22)[9.2%], miscellaneous chromosomal changes (mainly rearrangements of chromosomes 1,2,3,12 y 17)[8.2%], abnormalities of 16q22 [7.3%], t(8;21)[6.3%], -7/del(7q)[5.6%], t(6;9)[5.3%], and abnormalities of 11q23 [4.6%]. We reported an increase in the incidence of certain types of chromosomal changes seen in cases of AML, in comparison with reports from other countries. These differences could be due to methodological variations, although ethnic, socioeconomic and nutritional differences must not be disregarded. We support this finding when comparing distribution of changes in the population of patients seen in the IMSS hospitals with those from the HGM; the main difference lies in the socioeconomic level. (*Arch Med Res* 1997; 28:209)

KEY WORDS : Acute myeloid leukemia; Cytogenetic; Chromosome abnormalities.

Introduction

In patients with Acute Myeloid Leukemia (AML), approximately 60-80% of the cases have clonal chromo-

somal changes (1,2). About 55% of these patients with abnormal karyotypes show specific changes as a primary abnormality, which is associated as a causal event of the disease. The secondary chromosomal changes are in addition to the primary changes and reflect the clonal chromosomal evolution (1,4). The use of the French-American-British classification (FAB) and the specificity of the primary cytogenetic abnormality have made

Correspondence to:

QFB Rosa Ma. Arana-Trejo, Genética, Hospital General de México SSA, Dr. Balmis #148, Colonia Doctores, 06720 México, D.F., México, FAX: (525)761-7727.

the classification of AML possible in several groups (MIC classification) (5). For example, t(8;21), t(15;17), inv(16q) and changes in 11q23 are present in AML with M2 differentiation, Acute Promyelocytic Leukemia (APL or M3); Myelomonocytic Leukemia with bone marrow eosinophilia (M4eo) and Acute Monocytic Leukemia (M5), respectively. These chromosomal abnormalities constitute independent diagnostic and prognostic factors due to their association with a particular type of cellular differentiation (6,7).

The frequency of chromosomal abnormalities reported in AML at diagnosis varies (60-80%) and depends on factors such as culture time, band techniques and the type of institution. However, the majority of these reports included patients studied in different countries. Therefore, it is important to know the frequency and type of chromosomal abnormality in the Mexican population. In this report, we show the chromosomal changes seen in a group of 303 Mexican patients with *de novo* AML.

Patients and Methods

Patients. Included in the study were only those patients with *de novo* AML, without previous treatment with chemotherapy and/or radiotherapy and without a previous history of a myelodysplastic phase. These patients were admitted, diagnosed and treated between 1990 and 1995 at the Hematology Departments of the several participating hospitals. During this period, a total of 423 *de novo* patients were seen and of these, 120 were not included due to insufficient chromosomal material for analysis. Two hundred forty-two patients were diagnosed and treated at two hospitals affiliated to the Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) (Mexican Institute of Social Security): the Centro Médico Nacional Siglo XXI (21st Century National Medical Center) and the Centro Médico La Raza (La Raza Medical Center) and the remaining 61 at the Hospital General de México (HGM) (General Hospital of Mexico). The diagnosis was carried out following the FAB criteria when analyzing

the slides containing bone marrow samples and prepared peripheral blood samples using a modified version of the Wright staining technique (8,10).

Cytogenetics. Cytogenetic analyses were performed in the Genetic Department of HGM and were conducted in all patients at diagnosis on directly processed or cultivated (for 48-72 h without mitogenic stimulation) bone marrow cells (11,12), depending on amount from sample. In some patients, peripheral blood samples were cultured (for 48-72 h), and chromosomes identified using GTG banding; in M4 patients CBG banding was also used (13,14). The process of both samples (bone marrow and/or peripheral blood) were chance. Routinely, at least 10 banded metaphases were analyzed and the karyotypes classified according to International System for Chromosome Nomenclature criteria (ISCN) (15,16). A minimum observation of two metaphases with an identical structural rearrangement or an extra chromosome, or three cells with the loss of the same chromosome were indicative of the existence of an abnormal clone. When more than an abnormal clone was observed in the same patient, the karyotype was classified according to the specific chromosome. For example, a patient with an abnormal clone which has t(15;17) and trisomy 8, was categorized only as a patient with t(15;17); this allowed each patient to be classified. However, those that had non-specific and/or complex changes were classified as miscellaneous.

Statistical Analyses. The proportions analyses were performed using the following variables: age, sex, FAB subtypes, chromosomal abnormalities and hospital of origin.

Results

Three hundred-three patients with *de novo* AML were studied, of which 147 (47%) were male and 156 (53%) were female; ages ranging from 16 to 78 years and a

Table 1
Distribution of AML Patients According to FAB Subtypes

FAB Dx.	No. of Pts (%)	Hospital SXXI	Hospital LaRaza	Hospital HGM	Clonal Abnormalities	NN (%)	AN (%)	AA (%)
M0	7 (2.3)	4 (3.1)	1 (0.9)	2 (3.3)	7 (3.06%)	0	6 (85.7)	1 (14.3)
M1	25 (8.2)	11 (8.7)	6 (5.1)	8 (13.1)	21 (9.17%)	4 (16.0)	11 (44.0)	10 (40.0)
M2	71 (23.4)	23 (18.2)	34 (29.3)	14 (23.1)	57 (24.9%)	14 (19.7)	40 (19.7)	17 (24.0)
M3	76 (25.0)	21 (16.6)	40 (34.4)	15 (24.6)	59 (25.8%)	17 (22.4)	35 (46.0)	24 (31.5)
M4	69 (23.0)	44 (35.0)	17 (14.7)	8 (13.1)	47 (20.5%)	22 (31.8)	34 (49.6)	13 (18.8)
M5	34 (11.2)	17 (13.5)	14 (12.0)	3 (5.0)	25 (10.9%)	9 (26.4)	13 (38.2)	12 (35.3)
M6	21 (7.0)	6 (4.8)	4 (3.4)	11 (18.0)	13 (5.7%)	8 (38.1)	10 (47.6)	3 (14.3)
Total	303 (100)	126 (42)*	116 (38)*	61 (20)*	229 (75.6%)	74 (24.4)	149 (49.2)	80 (26.4)

Pts. Patients; *, % of total; NN, only normal metaphase; AN, mosaic of abnormal and normal metaphase; AA, only abnormal metaphases.

Table 2
Distribution of Cytogenetic Abnormalities in Patients with AML According to FAB Subtypes

	M0	M1	M2	M3	M4	M5	M6	Total (%)
n (%) ^a	7 (2.3)	25 (8.2)	71 (23.4)	76 (25.0)	69 (23.0)	34 (11.2)	21 (7.0)	303 (100)
Normal Karyotype	0	4 (16.0)	14 (19.7)	17 (22.4)	22 (31.8)	9 (26.4)	8 (38.1)	74 (24.4)
Clonal Abnormalities	7 (100)	21 (84.0)	57 (80.3)	59 (77.6)	47 (68.1)	25 (73.5)	13 (61.9)	229 (75.6)
1st Abnormalities								
t(9;22)	3	11	5	0	5	2	2	28 (9.2)
t(8;21)	0	1	18	0	0	0	0	19 (6.3)
t(15;17)	0	0	0	57	0	0	0	57 (18.8)
t/del/inv(16q)	0	1	0	0	21	0	0	22 (7.3)
t/del/inv(11q)	0	2	0	0	0	9	3	14 (4.6)
t(6;9)	0	1	8	0	3	1	3	16 (5.3)
-7/7q-	2	2	7	0	5	1	0	17 (5.6)
-5/5q-	0	0	2	0	4	1	0	7 (2.3)
Hyperdiploid	2	1	5	2	2	2	2	16 (5.3)
Hypodiploid	0	1	3	0	2	1	1	8 (2.6)
t/dup/del/inv(1q)	0	0	5	0	0	5	0	10 (3.3)
t/del(2q)	0	0	2	0	0	1	2	5 (1.6)
t/t/del/inv(3q)	0	0	0	0	4	0	0	4 (1.3)
Others	0	1	2	0	1	2	0	6 (2.0)
2nd Abnormalities (%)								
t(9;22)	0	1	2	1	0	1	0	5 (4.0) ^b
Trisomy 8	0	2	3	5	1	1	0	12 (9.8) ^b
-7/7q-	0	2	3	3	6	1	3	18 (14.8) ^b
-5/5q-	0	1	2	1	3	1	1	9 (7.4) ^b
Hyperdiploid	2	1	8	9	10	3	1	34 (27.9) ^b
Hypodiploid	0	1	2	5	2	1	0	11 (9.0) ^b
Translocation	0	2	5	4	1	5	1	18 (14.8) ^b
Others	0	1	6	6	1	0	1	15 (12.3) ^b

^a, % of total; ^b, % of secondary abnormalities.

median of 35(±15). Of the 303 patients, 126(42%) were from the 21st Century National Medical Center, 116(38%) from the La Raza National Medical Center and 61(20%) from the General Hospital of Mexico. Patient classification was carried out according to the FAB subtypes and is presented in Table 1. The predominant subtypes of the La Raza National Medical Center and the HGM were M3 (34.4 and 24.6%, respectively) and M2 (29.3 and 23.4%, respectively), while at the 21st Century National Medical Center, M4(35.0%) and M2(18.2%) patients predominated. However, these differences are not statistically significant.

Of the 303 patients, 229 showed chromosomal changes, giving a frequency of 75.6% abnormalities in this study. Of the remaining 74 patients (24.4%), a normal karyotype was observed (NN). A mosaic of normal and abnormal metaphases (NA), independent from the bone marrow and/or peripheral blood samples analyzed, were seen in 149 cases (49.2%). In 80 patients (26.4%), only

abnormal metaphases (AA) were seen with total absence of chromosomally normal cells. Of the 229 patients with chromosomal abnormalities, in 107 (47%), only one chromosomal abnormality was seen and in the remaining 122 (53%), secondary chromosomal changes were found. These data and their relationship with the FAB subtypes are presented in Table 1.

The incidence of chromosomal changes per hospital was 90(71.4%) in patients from the 21st Century National Medical Center Hospital, 87(75.0%) from the La Raza Hospital and 52(85.2%) from the HGM. The incidence of clonal abnormalities at the IMSS hospitals (21st Century and La Raza Hospitals) was similar, while at the HGM there was an increase in the incidence of clonal abnormalities.

In 73.8% of the patients with abnormalities, specific chromosomal changes were seen in accordance with the MIC classification; its relationship with the FAB subtypes and secondary chromosomal abnormalities is in-

Table 3
Frequency of Cytogenetic Abnormalities in Mexican Patients with AML in Comparison with Data Reported in Other Countries

	This Study (%)	Fourth Workshop ¹	Maroc C, et al. ³
No. of cases	303 (100)	660 (100)	125 (100)
Normal karyotype	74 (24.4)	307 (46.5)	35 (28.0)
Clonal Abnormalities	229 (75.6)	353 (53.5)	90 (72.0)
Specific changes			
t(9;22)	28 (9.2)	2 (0.3)	0
M2/t(8;21)	19 (6.3)	44 (6.6)	7 (5.6)
M3/t(15;17)	57 (18.8)	43 (6.5)	13 (10.4)
M4/t(16q)	22 (7.3)	12 (1.8)	9 (7.2)
M5/t(11q23)	14 (4.6)	23 (3.5)	8 (6.4)
t(6;9)	16 (5.3)	3 (0.5)	0
Non-random defects			
-7/del(7q)	17 (5.6)	21 (3.1)	4 (3.2)
-5/del(5q)	7 (2.3)	15 (2.2)	3 (2.4)
Numerical abnormalities	24 (8.0)	36 (5.5)	2 (1.6)
Miscellaneous abnormalities	25 (8.2)	154 (23.3)	33 (26.4)

cluded in Table 2 (2,3). The t(15;17) in M3 was the most frequent chromosomal change seen in this study (18.8%); it was seen as the primary change in 25 cases, and in 34 cases (44.7%), additional changes to the translocation were seen. Examples of these were hyperdiploidy, hypodiploidy, del(2q), +8 and even t(9;22). The second most frequent chromosomal abnormality seen in this study was the Philadelphia chromosome [t(9;22)] (9.2%), mainly in subtypes M1(4.3%), M2(2.7%) and M4(2.7%). The rearrangements of chromosome 16 constituted the third most frequent specific chromosomal change in this study (7.3%) and they were inv(16)(p16q22) in 16 cases, translocation with variable chromosomes in four and deletions in two, all implicating band q22. The fourth most frequently detected change was t(8;21) only in M2 in 6.3% of the cases. The t(6;9)(p23;q34) was found in 5.3% of the patients with abnormal karyotype and was associated with the FAB M2, M4 and M6 subtypes. Chromosome 11 abnormalities were seen in 4.6% of the cases and constituted deletions or translocations with variable chromosomes, implicating band q23. Among those found were t(2;11)(q34;q23), t(6;11)(q26;q23), t(11;17)(q23;q11-25) and t(11;18)(q23;q7), mainly in M5 and M6.

Seventy-three patients (31.8% of the patients with abnormal karyotype) had cytogenetic changes not associated with a specific FAB subtype according to the MIC classification and were grouped as non-specific defects in this report. Of these patients, 17 had 7q- or monosomy 7, seven cases with 5q- or monosomy 5 and the remain-

ing 24 had different numerical abnormalities (-1, +8, +mar hyperdiploidy or hypodiploidy). In 25 patients (8.2% of the patients with abnormalities), miscellaneous non-specific abnormalities were seen which included translocation, deletions or inversions, as well as a gain or loss of chromosomes. These rearrangements were seen in almost all the M2(3.7%), M4(2.1%), M5(1%) and M6(1%) FAB subtypes. Among the most relevant changes are the rearrangements of chromosome 1 [trisomy 1, del(1), t(1;18)(q21;p11), t(1;3)(q21;q26)], rearrangements of chromosome 2 [del(2), t(2;3)(q23;q21), t(2;5)(q23;q35), t(2,12)(q34;q21), t(2;14)(p13;q32)] and the rearrangements of chromosome 3, mainly in M4 [t(3)(p25q28), inv(3)(q21;q26)].

Table 3 shows the frequency of cytogenetic abnormalities and compares with data reported in other countries.

Discussion

In this study, the frequency of clonal chromosomal changes in AML was 75.6%. This result agrees with what has been reported in other large series of AML studies (1,3,8,9). The incidence of changes per hospital was similar in patients from IMSS Hospitals (72-75%), while an increase was seen in patients from the HGM (85.2%). This represents ethnic and socioeconomic differences in the type of population studied in these two hospital centers. While patients at the IMSS hospitals are diagnosed at early stages of the disease, patients at the HGM, due to their financial situation, look for help usually when they are in the terminal stages of the disease. This is reflected in the number and type of abnormalities observed in the karyotype. Although the patient's nutritional state is another variable to take into consideration, it is a well-known fact that cancer is a multifactorial disease and all of these aspects are implicated, not only in its etiology but also in its clinical course.

The majority of the patients included in this study had AN karyotypes (49.2% of the abnormales). The biologic significance that the normal metaphases have in these patients is doubtful. Apparently, these residual normal metaphases represent precursors required for resupplying the bone marrow after the aplasia induced by therapy, and in its absence can delay or impede the marrow's prompt recuperation (17). In this study, the FAB M2, M3 and M4 subtypes have the highest number of patients with AN karyotypes. This does not necessarily indicate that there is a predominance of these cell types for AN karyotypes, but that they are the predominant subtypes found in this study, although it is not to be disregarded that it may be due to the methodology used in the processing of the samples. The frequency of karyotypes with secondary chromosomal abnormalities in this study was 53% of the 229 patients with changes. This fre-

quency is higher than that reported in the literature for AML (18). The type and the distribution of these secondary changes is not specific, but a greater incidence of hyperdiploid (27.9%) was seen in the FAB M4, M3 and M2 subtypes.

According to the FAB classification, 76 (25%) of the patients in our series were classified as M3. This percentage is slightly higher than that reported in other countries (8,9,19). Of these patients, 57 (75%) had t(15;17), an incidence similar to that reported at the Fourth International Workshop on Chromosomes in Leukemia (Fourth IWCL) (2), although there are reports which indicate that translocation occurs in 90-100% of the cases detected through high resolution and molecular biology. This supports the fact that these differences in incidence are mainly due the different methodologies used at the different study sites, although ethnic and racial differences must not be disregarded.

The (9;22) (q34;q11) translocation is infrequent in AML (9). In this study, 9.2% of the patients with abnormal karyotypes showed to have this rearrangement as a primary change. The Philadelphia chromosome was seen in several FAB subtypes and was frequently seen in middle-aged patients (31-50 years old). This indicates that in the Mexican population with AML, the incidence of t(9;22) is high, which translates into an unusual clinical behavior compared to that reported in other countries.

Seventy-one patients (23.4%) were diagnosed as M2. This percentage is lower than that reported in other countries (1-3,8,9). This could be due to the incidence per age group. The majority of the patients were within the younger group (under 30), confirming that this disease is the subtype predominantly affecting children and adolescents. This could explain the differences with what is cited in the literature. Of these patients with M2, only 18 (6.3%) had t(8;21). The remaining 39 patients had other changes, such as t(9;22), t(6;9) or -7/del(7q). This indicates that in our adult population with AML, the frequency of M2 with t(8;21) is low.

The changes seen in chromosome 16q are recurrent in M4 and can range from deletions to translocations, with a greater frequency of inversions. In this study, 7.3% of the patients with changes presented these rearrangements. This was predominantly seen in patients under 30 years of age. These data verify what has been reported for other countries on the incidence of M4 with t/del/inv(16q) in young patients.

The t(6;9)(p23;q34) abnormality is a change present in young patients with AML or refractory anemia with excessive blasts (RAEB), and is closely associated with bone marrow basophilia (9,20). In this study, patients with t(6;9) were found to fall into the middle age group (31-50 years), with an incidence of 5.3%. This percentage is much higher than that reported in the literature (<1%) (2). These data show, with respect to the FAB

subtypes and the age of appearance, an incidence and a distribution different from t(6;9) in our population, which translates into an unusual clinical behavior compared to that reported in other countries.

The rearrangements of 11q23 in cases of AML-M5 and M6 were observed in 4.6% of the cases with abnormal karyotypes, and predominantly in the intermediate age group (31-50 years of age). In the literature, the frequency of these rearrangements varies (2.5-6.5%), due mainly to the quality of the metaphases which hinder the observation principally of the translocations (2,3). It is also reported that these rearrangements occur predominantly in children or young adults, which contrasts somewhat with the findings in this study.

Partial or total deletions of chromosome 7 and/or 5 have been described predominantly in preleukemic syndromes (9): in this study, 5.6% and 2.3%, respectively, of the patients with abnormalities showed these changes. Although only those patients with apparent *de novo* leukemia were included, the similarity of these chromosomal findings [-7/del(7), -5/del(5)] with age distribution and its high frequency, would seem to indicate that these cases passed through a previously non-detected myelodysplastic phase.

In this study, a high percentage (8.2%) of non-specific miscellaneous chromosomal changes was seen, predominantly in the M2/M4 subtypes, and were mainly rearrangements of chromosomes 1, 2, 3, 12 and 17. These rearrangements were grouped as miscellaneous due to their low frequency, although some of them had already been reported in AML as rearrangements of chromosome 3, associated mainly to thrombocytopenia (2). This leads us to believe that there is a great spectrum of changes in our population still not assigned to a FAB subtype or correlated to a determined clinical behavior, and that may be characteristic in our medium.

We reported an increase in the incidence of certain types of chromosomal changes seen in cases of AML, in comparison with reports from other countries. These differences could be due to the methodological variations, although ethnic, socioeconomic and nutritional differences must not be disregarded. We support this finding when comparing distribution of changes in the population of patients seen at the IMSS Hospital with those from the HGM, the main difference lying in the socioeconomic level. There are also other parameters that should not be overlooked, such as patient place-of-origin, previous exposure to myelotoxins, family history, etc.

The finding of the incidence and type of cytogenetic changes in our population of patients with AML can be a determining factor in the prediction of the disease's clinical behavior and therefore, in the adequate management of the patient, which translates into survival.

Acknowledgments

We thank Dr. Dolores Mino León and Dr. Nelly Cisneros González, Unidad de Investigación CMN SXXI, IMSS for assistance with statistical analyses and Laboratorios Sandoz de México, S.A. de C.V. for the translation of this manuscript.

References

1. Yunis JJ, Brunning RD, Howe RB, Lobel M: High-resolution chromosomes as an independent prognostic indicator in adult acute nonlymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 1984; 311:812.
2. Fourth International Workshop on Chromosomes in Leukemia: a prospective study of acute nonlymphocytic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 1982; 11:249.
3. Marosi C, Köller U, Koller-Weber IS, Schneider B, Jäger U, Vahls P, Nowotny H, Pirc DH, Steger G, Kreiner G, Wagner B, Lechner K, Lutz D, Bettelheim P, Haas OA: Prognostic impact of karyotype and immunologic phenotype in 125 adult patients with de novo AML. *Cancer Genet Cytogenet* 1992; 61:14.
4. Schiffer C, Lee E, Tomiyasu T, Wiernik P, Testa J: Prognostic impact of cytogenetic abnormalities in patients with de novo acute nonlymphocytic leukemia. *Blood* 1989; 73:263.
5. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Dattón DAG, Gralnick HR, Sultan C (French-American-British (FAB) Cooperative Group): Proposals for the classification of the acute leukemias. *Br J Haematol* 1976; 33:451.
6. Tashiro S, Kyo T, Tanaka K, Oguma N, Hashimoto T, Dohy H, Kamada N: The prognostic value of cytogenetic analyses in patients with acute nonlymphocytic leukemia treated with the same intensive chemotherapy. *Cancer* 1992; 70:2809.
7. Second MIC Cooperative Study Group: Morphologic, immunologic and cytogenetic (MIC) working classification of the acute myeloid leukemias. *Br J Haematol* 1988; 68:487.
8. Swansbury G, Lawler S, Alimena G, Arthur D, Berger R, Van Den Berghé H, Bloomfield C, de la Chapelle A, Dewals G, Garson O, Hagemeijer A, Mitelman F, Rowley J, Sakurai M: Long-term survival in acute myelogenous leukemia: a second follow-up of the fourth international workshop on chromosomes in leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 1994; 73:1.
9. Walker H, Smith FJ, Betts D: Cytogenetic in acute myeloid leukemia. *Blood Review* 1994; 8:30.
10. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DAG, Gralnick HR, Sultan C: Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia. *Am J Internal Medicine* 1985; 103:620.
11. Hozier JC, Linguist LL: Banded karyotypes from bone marrow: a clinical useful approach. *Human Genet* 1980; 53:205.
12. Moorhead PS, Nowell PC, Mellman WJ, Battipati DM, Hungerford DA: Chromosome preparations of leukocytes cultures of normal human peripheral blood. *Exp Cell Res* 1960; 20:613.
13. Wang HC, Fedoroff S: Banding in human chromosomes treated with trypsin. *Nature New Biol* 1972; 253:52.
14. Sumner AT: A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exp Cell Res* 1972; 75:304.
15. ISCN: An international system for human cytogenetic nomenclature. Birth Defects: Original article series, Vol 21, No 1. National Foundation-March of Dimes, New York, 1995.
16. Mitelman F: Catalog of chromosome aberrations in cancer. 4th ed. New York, NY, Liss; 1991.
17. Ghaddar HM, Pierce S, Reed P, Estey EH: Prognostic value of residual normal metaphases in acute myelogenous leukemia patients presenting with abnormal karyotype. *Leukemia* 1995; 9:779.
18. Johansson B, Mertens F, Mitelman F: Secondary chromosomal abnormalities in acute leukemias. *Leukemia* 1994; 8:953.
19. Call T, Noël P, Habermann T, Beard M, O'Fallon M, Kurland L: Incidence of leukemia in Olmsted County, Minnesota, 1975 through 1989. *Mayo Clin Proc* 1994; 69:315.
20. Pedersen-Bjergaard J, Rowley J: The balanced and the unbalanced chromosomal aberrations of acute myeloid leukemia may develop in different ways and may contribute differently to malignant transformation. *Blood* 1994; 83:2780.