



XXI

**CONGRESO ARGENTINO
DE HEMATOLOGÍA**

29 de OCTUBRE al
1 de NOVIEMBRE 2013

POSTERS ADULTOS Y PEDIÁTRICOS

POSTERS ADULTOS Y PEDIÁTRICOS (PAYP)

Anemias/eritropatías: PAYP001 a PAYP006

Hemostasia y trombosis: PAYP007 a PAYP010

Biología molecular y citogenética: PAYP011

Citometría de flujo: PAYP012 y PAYP013

Hematología experimental: PAYP014 y PAYP015

Laboratorio: PAYP016 a PAYP018

Leucemias agudas: PAYP019

Neoplasias linfoides: PAYP020

Medicina transfusional: PAYP021

Trasplante: PAYP022

Otros: PAYP023

UN NUEVO CASO DE DEFICIENCIA DE GLUCOSA 6 FOSFATO DESHIDROGENASA (G6PD) EN ROSARIO

PAYP001

I del L Acosta, S Pérez, H Ulrich, M Raviola, L Verón, O Lanza, S Zironi, A Milani

Fac. de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Universidad Nacional de Rosario. Suipacha 531. Rosario. 2000. Instituto de Estudios Hematológicos y Medicina Clínica "Dr Rubén Davoli". Laprida 1061. 2000. Rosario

La deficiencia de G6PD es la eritroenzimopatía más frecuente en el mundo. En la ciudad de Rosario presenta una prevalencia de 0,3 % y todos los casos descriptos están relacionados con anemia hemolítica aguda intravascular (AHAI), la mayoría, desencadenados por estados de stress oxidativo por infecciones, medicamentos, ingesta de habas (Vicia Fava), etc. Existen más de 120 variantes moleculares deficientes de las cuales hasta el momento se han detectado tres en Rosario: G6PD^{Med(563GAT)}, G6PD A^{376(AAG)} 202(GAA); G6PD A^{376(AAG)} 680 (GAT).

Presentamos el caso de un niño de 8 años con cuadros de AHAI recurrentes, con exigencia transfusional y diagnóstico presuntivo de hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN). En función del sexo y el cuadro clínico se investigó también la deficiencia de G6PD. Se realizaron las siguientes determinaciones: Hemograma (Sysmex KX-21N), Test de Ham, CD59, test de Brewer (TB), Dosaje de la actividad enzimática de G6PD (AE) (Beutler-OMS): VN: 8,0±1,6 UI G6PD/gHb, Reacción en cadena de la polimerasa con enzimas de restricción (PCR-ER) para las siguientes variantes G6PD^{Med(563GAT)}, G6PD A^{376(AAG)}, G6PD A^{376(AAG)} 202(GAA), G6PD A^{376(AAG)} 680 (GAT) y G6PD A^{376(AAG)} 968 (TAC).

Se obtuvieron los siguientes resultados: Test de Ham y CD 59 : negativos, Hemoglobina: 11,0 g/dl, TB: positivo; AE: 1,6 UI G6PD/ gHb y PCR-ER: G6PD^{Med(563GAT)}; (variante Mediterránea)

Se descartó el diagnóstico de HPN y la confirmación de la deficiencia de G6PD permitió la prevención de futuros episodios hemolíticos ya que los anteriores estaban relacionados a procesos infecciosos e ingesta de medicamentos. Debido a su baja AE y estabilidad, la G6PD^{Med} está asociada a cuadros hemolíticos intravasculares graves desencadenados por sustancias oxidantes y que por lo general es frecuente el requerimiento transfusional.

Esta es la segunda familia no relacionada en la que se detectó la variante Mediterránea en la ciudad de Rosario.

RELACIÓN FENOTIPO-GENOTIPO EN PACIENTES (PT) CON DEFICIENCIA DE GLUCOSA-6-FOSFATO DESHIDROGENASA (DG6PD)

PAYP002

A Chaves, S Eandi Eberle, C Pepe, G Sciuccati, L Díaz, V Avalos Gomez A Candas, C Cervio, M Auat, F Aguirre, M Bonduel, A Feliu Torres Servicio de Hematología-Oncología Hospital de Pediatría Dr. J.P. Garrahan C.A.B.A.

Introducción: la DG6PD es una enzimopatía ligada al cromosoma X, causada por mutaciones (Mts) en el gen G6PD, que ocasiona variantes proteicas con diferentes niveles de actividad enzimática. Las manifestaciones clínicas más frecuentes son la ictericia neonatal, la anemia hemolítica crónica no esferocítica (AHCNE) y la anemia hemolítica episódica (AHE) desencadenada por agentes infecciosos, medicamentos o la ingesta de habas. La relación fenotipo-genotipo es altamente heterogénea existiendo más de 140 Mts asociadas a más de 400 variantes bioquímicas.

Objetivos: Relacionar las características clínicas, el porcentaje de actividad enzimática (AE) y el genotipo en pt con DG6PD.

Materiales y Métodos: Estudio retrospectivo-descriptivo de 11 pt varones, pertenecientes a 8 familias no relacionadas con diagnóstico confirmado de DG6PD por cinética espectrofotométrica a 340nm, edad mediana 7.92 años (r 0.62-56.42), en el período comprendido entre marzo de 1991 y mayo de 2013. El análisis molecular del gen G6PD se realizó por PCR-Seuenciación.

Resultados: 6 pt presentaron AHCNE. En 4 de ellos se detectaron 2 MTs descriptas previamente: p.Phe381Ile en 3 pt pertenecientes a la misma familia (AE 3.9 %, 4.3 % y 18.2 %) y p. Arg387His en 1 pt (AE 15 %). En los 2 pt restantes se detectaron 2 MTs aún no reportadas: p.Ser332Phe (AE 5 %) y p.Pro409Gln (AE 19.1 %). En los 5 pt con AHE el análisis molecular permitió detectar las siguientes Mts: 2pt p. Leu323Pro (AE 11.5 % y 17.3%); 1pt p.Ser188Phe (AE 31%) y 2pt p. [376 A>G; 202 G>A] (AE 20 % y 21.5 %).

Conclusión: la caracterización bioquímica y molecular de pt diagnosticados con DG6PD permitió observar la heterogeneidad molecular de esta deficiencia, la adecuada relación entre la clínica y las MTs encontradas y describir 2 nuevas mutaciones puntuales asociadas a DG6PD Clase I.

IDENTIFICACION DE HEMOGLOBINA HASHARON (HB HASHARON)

PAYP003

M Aixelá, MP Domínguez, K Canalejo, F Acevedo, MA Bracken, I Bragos, M Ojeda, A Pratti, M Voss, A Milani, S Perez 1-Laboratorio Aixelá-Blanco; 2-Cátedra de Hematología. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, Universidad Nacional de Rosario. Rosario, Santa Fe.

Introducción Hb Hasharon [a47(CE5) Asp(GAC) *His (CAC)] es una Hb anormal, reportada en judíos (Ashkenazi), italianos y alemanes. Presenta movilidad similar a la HbS (acetato celulosa) y aunque tiene poca relevancia clínica per sé, es importante el estudio familiar en caso de heredarse junto a otras variantes de Hb. **Objetivo** Reportar y analizar los estudios realizados para llegar a la identificación de Hb Hasharon. **Materiales y métodos** Propósito: mujer (descendiente de europeos del este) y su hija. Consulta por leve microcitosis con perfil de hierro normal. Estudios: hemograma, perfil de hierro, electroforesis Hb en medios alcalino y ácido, Hb fetal, drepanoformación, análisis de cadenas de globina α y β (urea/2-mercaptoetanol), amplificación por PCR y secuenciación de los genes alfa globina 1 y 2. **Resultados** Propósito/hija respectivamente: eritrocitos 5,38/5,54 x10¹²/L; Hb 14,4/14,6 g/dL, VCM 81,6/79,3 fL; HCM 26,7/26,3 pg; ADEcv 13,1/13,0 %, ADEd 38,2/36,8 fL; hierro 67/74 μ g/dL; HbA2 2,9/2,5 %; Hbfetal 0,5/0,5 %; Hbintermedia entre HbA-HbA2 (acetato celulosa-alcalino) 27,7/21,6 %. En ambas se observó ligera microcitosis e hipocromía, drepanoformación negativa, Hb con movilidad más lenta que HbA (electroforesis agar-ácido) y cadena α globina anómala. No se detectó alteración en la secuencia del gen alfa 1 globina; la secuencia del gen alfa 2 globina mostró una mutación puntual (cambio de Asparagina por Histidina en el codón 47) denominada Hb Hasharon.

Conclusiones: 1-Ante el hallazgo de una banda intermedia HbA-HbA2 (acetato celulosa-alcalino), considerar otras posibles hemoglobinas anómalas además de la HbS; 2-Ante una Hb anómala menor al 30 % tener en cuenta posible mutación en el gen alfa; 3-La hematimetría y los perfiles electroforéticos son fundamentales para orientar el estudio molecular; 4-Es importante combinar metodologías clásicas y genético-moleculares en el estudio de las hemoglobinopatías para arribar a una correcta identificación de la Hbanómala.

TALASEMIA INTERMEDIA (TI): COMBINACIÓN DE BETA TALASEMIA (β Th) Y TRIPLICACIÓN DE GENES ALFA

PAYP004

I Bragos, M Ojeda, A Pratti, M Voss, A Milani, O Lanza, S Perez, J Fedele 1Cátedra de Hematología. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR. Rosario. 2Sanatorio Los Arroyos. Rosario.

Introducción: las Th son desórdenes hematológicos debidos a defectos en los genes de α y β globinas. Un desbalance en la síntesis de una o más cadenas de globina puede resultar en un amplio espectro de fenotipos, dependiendo del tipo y la cantidad de globina sintetizada. En pacientes con TI, condición conocida como "Th no dependiente de transfusiones" (TNDT), los requerimientos transfusionales son ausentes o episódicos. TNDT incluye β Th, HbE/ β Th y α TI, conocida también como enfermedad por Hb H. La β Th resulta de la herencia de uno o dos alelos leves de β Th; la co-herencia junto con dos alelos severos, de modificadores genéticos (ej: alfa Th o determinantes genéticos que aumentan la Hb F) que reducen el desbalance de la síntesis de cadenas o la co-herencia de mutaciones típicas de β -talasemia y triplicación o cuadruplicación del gen alfa lo que aumenta el desbalance de cadenas. **Objetivo:** presentar un caso de TI y analizar los estudios realizados para llegar al diagnóstico. **Materiales y Métodos:** mujer de 36 años que consulta por moderada anemia a la que se le realizó hemograma, patrón de hierro, electroforesis de hemoglobinas, ARMS-PCR y Gap-PCR. **Resultados:** GR 3.68x10⁶/ml, Hb 8g/dl, Hto 26%, VCM 66fL, HCM 21pg. con microcitos hipocromicos, punteado basófilo y marcada poiquilocitosis. El patrón de hierro fue normal. El estudio de hemoglobinas por electroforesis evidenció A2= 4,9%, coincidente con el de un portador de β Th. Mediante ARMS-PCR se detectó la mutación IVS1-1. Debido a la importante anemia de la paciente que no podía ser justificada por su condición de portadora de β Th, se investigó mediante GAP-PCR la triplicación de genes alfa (aaaanti3.7) resultando ésta positiva. **Conclusiones:** en la paciente se detectó la asociación de β Th y triplicación de genes alfa como responsable de su TI. La hematimetría y el perfil electroforético son fundamentales para orientar el estudio molecular. Se deben tener en cuenta las posibles asociaciones de los alelos talasémicos con modificadores genéticos que agravan el fenotipo de portador. Es importante combinar metodologías clásicas y moleculares en el estudio de las hemoglobinopatías para arribar a un diagnóstico correcto.

ESPECTRO DE MUTACIONES Y ASOCIACIONES DE ALELOS BETA TALASEMICOS

PAYP005

M Ojeda, I Bragos, S Perez, A Pratti, M Voss, A Milani, M Williams
K Calvo, E Agriello, M Aixala

1Cátedra de Hematología. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas, UNR. Rosario. 2 LEB Laboratorio de Especialidades Bioquímicas. Bahía Blanca 3 Laboratorio Aixalá-Blanco. Buenos Aires

Introducción: las Th son desórdenes hematológicos heredados con carácter autosómico recesivo. Los defectos en el gen de b globina son responsables de las b Th. Las mutaciones resultan en la ausencia o reducción de síntesis de cadena b (b⁰ ó b⁺ Th), hay más de 200 descriptas como responsables. A pesar de la marcada heterogeneidad molecular, 4 a 10 mutaciones generalmente ocurren en la gran mayoría de los alelos talasémicos (AT). En ocasiones, éstos se pueden asociar a otras mutaciones que pueden suavizar o agravar el cuadro de portador. **Objetivo:** presentar el espectro de mutaciones de b Th y sus asociaciones en una población de 246 AT. **Materiales y Métodos:** se estudiaron 246 AT. Mediante ARMS-PCR se analizaron 6 mutaciones (CD39, IVSI-110, IVSI-6, IVSI-1, IVSII-1, IVSII-745) y en aquellos en los que no se identificó ninguna de éstas, se procedió a la secuenciación del gen b desde la posición -159 de la región promotora hasta 200 bases corriente abajo de la finalización del gen. **Resultados:** de los 246 AT estudiados, el CD39 se halló en 120 (48,78%), el IVSI-110 en 60 (24,39%), el IVSI-1 en 23 (9,34%), el IVSII-745 en 17 (6,91%), el IVSI-6 en 14 (5,69%) y el IVSII-1 en 5 (2,03%). Mediante secuenciación se identificaron las mutaciones: IVSI-2 en 2 AT (0,81%), CD6(-A) en 1 AT (0,40%) y CD41/42 (-TTCT) en 1 AT (0,40%). Estas 3 últimas mutaciones correspondieron a b0 Th. En 2 AT no se detectaron mutaciones en el gen b (0,81%). Del total de AT estudiados, 18 (7,31%) se asociaron con otros AT, 2 (0,81%) con HbS, 1 (0,40%) con Hb Interlaken, 7 (2,84%) con triplicación de genes alfa y 2 (0,81%) con alfa Th (-a³⁷). **Conclusiones:** el alelo CD39 fue el más frecuente, siguiendo en frecuencia decreciente el IVS I-110, el IVSI-1, el IVSII-745, el IVSI-6 y por último el IVSII-1. Del total de AT estudiados, el 10,97% se encontró asociado a otras mutaciones que empeoraron su fenotipo (otros AT, HbS, aaa^{ant37}), mientras que un 0,81% se asoció a mutaciones que lo suavizaron (-a³⁷). En todos los casos la asociación de alelos talasémicos con triplicación de genes alfa resultó en Th intermedia. La asociación de un AT con Hb Interlaken, no modificó el fenotipo talasémico.

HEMATOMA DE MÚSCULO PSOAS EN PACIENTES CON HEMOFILIA

PAYP007

H Simon, M Candela, M Tezanos-Pinto, D Neme

Fundación de la Hemofilia. Buenos Aires, Argentina. Academia Nacional de Medicina de Buenos Aires, Argentina

Introducción: Los hematomas del músculo psoas (HMP) son una complicación frecuente en pacientes con hemofilia, potencialmente fatales y asociados a morbilidad significativa. Se presentan con dolor abdominal inferior e inguinal y síntomas de compresión del nervio femoral. En la literatura solo se reportan casos aislados acerca de esta entidad. **Materiales y métodos:** Análisis retrospectivo de los pacientes internados en nuestra Institución con diagnóstico de HMP entre julio de 2009 y junio de 2012. **Resultados:** Se registraron 37 eventos en 33 pacientes, cinco tenían inhibidor, ninguno realizaba tratamiento de profilaxis. El 54% presentó HMP previo. La edad media fue de 22 +/- 8,7 años. El 32% fue desencadenado por traumatismo o esfuerzo. Todos los pacientes al momento del diagnóstico presentaron dolor en fosa ilíaca o inguinal acompañado de flexión antálgica del muslo. El 65% presentó síntomas sensitivos. Se realizó diagnóstico ecográfico en 13 episodios (35%), con un volumen medio de 261 cc. En los pacientes sin inhibidor se realizó tratamiento sustitutivo en infusión continua durante 6 +/- 2 días, con dosis media de 1,8 UI/Kg/h (rango 1,1-3). La recuperación plasmática de factor fue 41% (20-97). Entre los pacientes con inhibidor se reportaron 11 eventos; nueve fueron tratados con NovoSeven®, con dosis media total durante la internación de 258,7 mg. Dos pacientes recibieron FEIBA®, con una dosis promedio de 50.500 UI. El promedio de estancia hospitalaria fue 8,6 días. El 86% alcanzó recuperación completa (extensión completa del muslo, ausencia de dolor). Dos pacientes requirieron transfusión de glóbulos rojos. En análisis multivariable la presencia de inhibidor fue el único factor que se correlacionó negativamente con la probabilidad de recuperación.

Conclusiones: Entre los pacientes que no realizan tratamiento profiláctico los HMP son un evento frecuente con un alto índice de recaídas. El tratamiento con infusión continua del factor deficiente acelera la recuperación ya que mantiene valores hemostáticos de forma constante. La presencia de inhibidor se asocia a una menor probabilidad de recuperación completa.

DESCRIPCIÓN DE LA PRIMERA FAMILIA CON SÍNDROME TALASÉMICO DOMINANTE POR HB DURHAM-N.C. EN ARGENTINA.

PAYP006

M Attie, KG Scheeps, N Basack, A Cocca, SP Pennesi, G Drelichman
L Aversa, L Francipane, V Varela

(1) Unidad de Hematología, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez, Ciudad de Buenos Aires, Argentina. (2) Cátedra de Genética y Biología Molecular, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, INIGEM, CONICET, Ciudad de Buenos Aires, Argentina. (3) División Genética Htal. de Clínicas "José de San Martín", Ciudad de Buenos Aires, Argentina.

Introducción: La β talasemia dominante (TD) hereditaria comprende un grupo de mutaciones en el gen de la cadena β globina, produciendo un fenotipo talasémico. Hay más de 30 alelos que se heredan en forma dominante asociados con rasgos similares. La variante Durham/Brescia corresponde a una Hb hiperinestable causada por una mutación puntual de cambio de sentido en el codón 114 (CTG > CCG) del gen HBB. Existen pocas familias reportadas en la literatura. **Objetivo:** Presentar el perfil hematológico y molecular de la primera familia en Argentina con síndrome TD por Hb Durham-N.C. **Materiales y Métodos:** Paciente (p) masculino con diagnóstico de portador talasémico desde los 5 años (a) de edad con: Hb: 9,5gr/dl, microcitosis e hipocromía, HbA2 4,5% y Hb F 11,6%, CK negativo. Padres y hermana: HbA2 y HbF normales. A los 10 a de edad: colecistectomía por litiasis vesicular. Se purificó ADN genómico del p y su hijo (h), se amplificó por PCR el gen HBB completo y se secuenció. Se estudiaron 3 marcadores asociados al aumento de Hb F rs7482144 (HBG2-158) por PCR y digestión con XmnI y rs4895441 (HBS1L-MYB) y rs11886868 (BCL11A) por PCR Real Time y detección con sondas TaqMan. **Resultados:** Las secuencias del gen HBB del p y su h mostraron el cambio c.344T>C en heterocigosis, (beta 114(G16) Leu>Pro) que corresponde a la Hb Durham-N.C. o Hb Brescia (HbVar ID 493) una hemoglobina inestable con un fenotipo de TD. El cambio de un aminoácido alifático por uno polar que introduce rigidez, perturba la estructura de la hélice G. La proyección de la cadena lateral al bolsillo del hemo, desestabiliza la estructura, provocando la precipitación de las cadenas β y disminuyendo la interacción con las cadenas α de globina. El p presentó la siguiente combinación de alelos para los loci de Hb F estudiados: CT, AA y GG; mientras que su h resultó CC, AG y AG. **Conclusión:** se reporta por primera vez en Argentina esta variante, que se presentó de novo; el estudio familiar confirma que la mutación se transmitió a la descendencia. Se realizó el asesoramiento genético familiar. Los diferentes genotipos para los marcadores de Hb F estudiados no justifican las diferencias observadas en los niveles de Hb F.

¿CUÁNDO RESULTA CLÍNICAMENTE SIGNIFICATIVO UN CAMBIO EN LA HEMOSTASIA?

PAYP008

L. Maydana, S. Martinez Methol, F. Ventimiglia, L. D'Agostino
Laboratorio D'Agostino-Bruno. La Plata.

Introducción: La diferencia crítica o valor de referencia para el cambio (RCV) permite establecer si la diferencia entre dos resultados sucesivos de un análisis es debida a la variabilidad biológica y analítica del mismo o a un cambio en la homeostasis del paciente. Resulta ser un parámetro de gran utilidad tanto para el médico para la toma de decisiones durante el monitoreo de un tratamiento como para el bioquímico a la hora de validar un resultado. **Objetivo:** Calcular el RCV para tres parámetros de coagulación solicitados habitualmente por los médicos en los estudios de hemostasia, tiempo de tromboplastina parcial activada (APTT), Tiempo de Protrombina (TP) y Fibrinógeno (FBR). **Materiales y Métodos:** Se utilizó un coagulómetro semiautomatizado ST4 art, Stago. Para la medida del APTT, se utilizó el reactivo APTT Kaolin (Roche), para el TP, el reactivo Neoplastin Plus (Roche) y para el FBR, el reactivo Fibrinest (Roche). Se calculó el RCV mediante la ecuación de Fraser: RCV: $Z \times 2 \times 1/2 \times (VB2 + CV2)^{1/2}$, donde VB es la variabilidad biológica (fluctuación de un determinado analito en su concentración en condiciones normales, obtenida de la base de datos de Ricos y col.), CV es el coeficiente de variabilidad analítica porcentual (se obtiene a partir del promedio del CV de cada analito registrada en nuestro control de calidad interno durante un periodo de 6 meses) y Z= 1,96, es factor que está relacionado con el número de desvíos estándar correspondientes a la probabilidad del 95%. Se consideraron 2 niveles de decisión (ND) para cada parámetro evaluado. **Resultados:** APTT: VB 2,7%; CV 5,6%, RCV 17,2%; ND 32 seg, RCV abs 6 seg; ND 70 seg, RCV abs 12 seg. TP: VB 4%; CV 4,9%, RCV 17,5%; ND 12,5 seg, RCV abs 2 seg; ND 32,7 seg, RCV abs 6 seg. FBR: VB 10,7%; CV 14,9%, RCV 50,8%; ND 344 mg/dl, RCV abs 174 mg/dl; ND 153 mg/dl, RCV abs 78 mg/dl.

Conclusiones: Mediante el cálculo del RCV logramos determinar el porcentaje del cambio por encima del cual se asume que la condición del paciente varía por razones que no dependen del método de medida o de su VB. Resultó ser 17,2% para APTT, 17,5% para TP y 50,8% para FBR. Incorporar el RCV en el informe del paciente brinda mayor información que la otorgada por el rango de referencia. A través del mismo, el médico podrá definir si un cambio numérico en el resultado refleja un cambio significativo en la homeostasis del paciente y establecer la toma de decisiones. Actualmente, se utiliza este parámetro en nuestro laboratorio para la validación bioquímica de los resultados de pacientes y permite tomar una de las siguientes acciones: decidir la repetición de un estudio, re citar un paciente, llamar al médico o incorporar una advertencia en el informe.

GENOTIPOS DE VKORC-1 EN PUEBLOS ORIGINARIOS PAYP009

M Vera Morandini, L Remotti, S Grosso, M Ingratti, F Alberto, S Meschengieser, A Sanchez Luceros, M Lazzari, A Blanco, Dpto. Hemostasia y Trombosis - IIHEMA Academia Nacional de Medicina, Argentina.

La dosis de los anticoagulantes orales depende en parte de los polimorfismos (SNPs) del gen de la vitamina K epóxido reductasa (VKORC-1). Dado que no existen reportes de estudios de la prevalencia de los SNPs de VKORC-1 (-1639G>A y 1173C>T) en individuos pertenecientes a pueblos originarios, nos planteamos registrar las características étnicas de pacientes anticoagulados, para analizar la frecuencia de los alelos y compararla con la de individuos controles de origen caucásico, para determinar si existen evidencias de un comportamiento diferente entre ambos grupos. **Materiales y Métodos:** Estudiamos 77 individuos (8-88 años; femenino 65%), 27 de los cuales eran anticoagulados descendientes de pueblos originarios y 50 controles, de origen caucásico. El origen étnico de los individuos analizados se asignó en base a los resultados de una encuesta validada. La genotipificación fue realizada mediante el análisis de la longitud de los fragmentos polimórficos de restricción (RFLPs), luego de la amplificación del ADN por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), seguida por digestión con MspI para -1639G>A y StyI para 1173C>T. **Resultados:** La tabla muestra la frecuencia de los SNPs -1639G>A y 1173C>T en los descendientes de los pueblos originarios y en los controles caucásicos. Las diferencias no fueron significativas (Chi cuadrado, p>0,05) para ninguno de los SNPs analizados. Se corroboró además que existe desequilibrio de unión (p<0,0001) entre los dos SNPs, en ambos grupos. **Conclusiones:** Si bien no encontramos diferencias estadísticamente significativas que muestren un comportamiento diferente de la frecuencia alélica en ambos grupos étnicos, estos resultados son preliminares. El número de muestras de pacientes (n: 27) es pequeño, ello podría hacer no significativa la tendencia observada en el sentido de una mayor proporción de heterocigotos, de ambos SNPs, en los individuos descendientes de pueblos originarios. La inclusión de un número mayor de casos analizados, podría dar peso estadístico a estas diferencias.

Polimorfismo	Genotipo	Frecuencia (%)		Significación estadística P
		Caucásicos (n=50)	Pueblos Originarios (n=25)	
-1639G>A	AA	24,0	22,2	0,363
	AG	40,0	55,6	
	GG	36,0	22,2	
1173C>T	CC	32,0	22,2	0,453
	CT	48,0	63,0	
	TT	20,0	14,8	

PREVALENCIA DE TROMBOFILIA HEREDITARIA PAYP010

POCO FRECUENTE: ANÁLISIS DESDE EL LABORATORIO
A.C. Maldonado, A. Avigliano, C. Val, M.F. Yaunguzian, R. Fernandez, G. Garritano, D. Aylagas, A. Yahari, A.B. Vilaseca, M.I. Gutiérrez, Stamboulain Laboratorio y Clínica San Camilo, Buenos Aires, Argentina

Las alteraciones genéticas más frecuentes que definen trombofilia son: la mutación R506Q en el Factor V (Leiden, FVL) y la mutación G20210A en el Factor II (protrombina). Ambas presentan herencia autosómica dominante y penetrancia variable, dependiendo de otros factores de riesgo. El FVL se asocia a resistencia a la proteína C activada y se reportó en 2.9% de la población argentina y 18% de pacientes caucásicos con enfermedad tromboembólica (ETE). Protrombina G20210A se reportó en 2,6% de la población argentina y 6,2% de pacientes caucásicos con ETE. La prevalencia de portadores doble-heterocigotas y homocigotas es menor (0,1% y <0.02% en población caucásica). Los individuos portadores tienen un riesgo aumentado de trombosis, incrementándose mucho más en los que presentan 2 alelos mutados. Nuestro objetivo fue analizar la prevalencia de individuos con estas alteraciones genéticas en pacientes con sospecha de trombofilia referidos a nuestro laboratorio. Se estudiaron en total 1037 pacientes de Julio 2008 a Junio 2013 para FVL (N=432) y/o Protrombina G20210A (N=832) por PCR en tiempo real (Roche) en ADN genómico extraído de sangre periférica. La RPCA se midió con el COATEST APC Resistance, Chromogenix. La razón (VR>2) estima la función anticoagulante in vivo. Una RPCA <2.0 sugiere portador y <1.6 homocigota. Las frecuencias observadas fueron para FVL: 17% heterocigotas y 0,7% homocigotas; para Protrombina G20210A: 4% heterocigotas y 0,24% homocigotas. Se identificaron 3/227 doble heterocigotas (1.3%). Las RPCA fueron en promedio 2,58 (rango 1,4-3,5) para los normales, 1,73 (rango 1,5-2,0) para los heterocigotas y 1,2 para los 3 homocigotas. Concluimos que las frecuencias observadas confirman los datos de la bibliografía. Existe una asociación clara entre el genotipo FVL y la RPCA. Se identificaron 8 casos de trombofilia infrecuente, con homocigosis del FVL, de la protrombina 20210A y doble-heterocigotas, que merecen un seguimiento especial, considerando que tanto la genética como el ambiente son factores predisponentes de ETE.

DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIAS AGUDAS PAYP011

EN NUESTRO CENTRO: ANÁLISIS MOLECULAR/CITOGENÉTICO
C Lang, P Iommi, P Pombo, L Zanella, F Torreguitart, N Santillán, E Agriello, LEB Laboratorio de Especialidades Bioquímicas, Bahía Blanca, GHS

Introducción: Las leucemias agudas (LA) representan el 44% de las leucemias diagnosticadas por año en todo el mundo. Las leucemias linfoblásticas agudas (LLA) predominan en la población pediátrica, y en adultos las leucemias mieloblásticas agudas son las más frecuentes (LMA). La identificación de alteraciones clonales tiene relevancia clínica en el diagnóstico y el pronóstico, esto justifica realizar una adecuada caracterización de la patología. **Objetivo:** Correlacionar los resultados de técnicas citogenéticas (CTG) y moleculares en la identificación de leucemias agudas luego de la identificación de línea por Citometría de Flujo Multiparamétrica (CFM). **Materiales y métodos:** Se estudiaron 196 LA (enero 2012-julio 2013), 114 LLA (77 pediátricos y 37 adultos) y 82 LMA. El diagnóstico se realizó por morfología y se identificó la línea involucrada por CFM. El perfil inmunofenotípico orientó al estudio molecular. Los rearrreglos evaluados en LLA fueron: BCR-ABL, ETV6-RUNX1, MLL, MYC, SIL-TAL y E2A, y en LMA: PML-RAR, AML1-ETO, MLL, CBFβ (inv(16)) y BCR-ABL. El estudio citogenético (CTG) se realizó en 78 LMA y en 106 LLA. **Resultados:** Se hallaron cariotipos anormales en 50% de las LLA y en 59% de las LMA. En 11/13 PML-RAR+ se encontró la t(15;17). En 4/6 AML-ETO+ se halló la t(8;21), todos con expresión de CD19 y/o CD56, en uno de ellos además se encontró en el CTG una t(9;22) ratificado por técnica molecular. En 1/3 MLL+, LMA con dif. monoblástica y 7.1+, se encontró del(11)(q23). En 3/5 CBFβ+ se encontró la aberración en el CTG. En las LLA BCR-ABL+ por FISH se encontró la t(9;22) en todos los pacientes pediátricos y en 5/8 adultos. En 2/3 pacientes pediátricos MLL+, LLA pro-B y 7.1+ se encontró t(4;11) en el CTG. En 2/4 de los pacientes MYC+ se hallaron add(14) y t(2;8). **Conclusiones:** El estudio secuencial para identificación de patologías a partir de la inmunofenotipificación sirve para optimizar el uso de las técnicas. Los resultados demuestran su complementariedad pero nunca su sustitución. El CTG confirmó la alteración detectada por FISH en casos positivos para BCR-ABL, PML-RAR, MYC y AML1-ETO. Se evidencia la necesidad de formación profesional en la toma de muestra, transporte y procesamiento para la mejor resolución del CTG.

COMPARACIÓN DE RESULTADOS DE SUBPOBLACIÓN PAYP012

DE LINFOCITOS T POR DOS TECNOLOGÍAS DIFERENTES DE PLATAFORMA SIMPLE
H Kranen, H Poblete, J Mollo, Laboratorio de Microbiología y Medicina Molecular. Hospital de Enfermedades Infecciosas Dr. Lucio Córdova. Santiago, Chile

Introducción: El estudio de subpoblaciones de linfocitos T es indispensable para etapificar la infección de VIH como evaluar la respuesta inmunológica a la terapia antiretroviral. Para ello se utiliza la técnica de citometría de flujo y dentro de esta técnica el Gold Standard es en plataforma simple, que permite el análisis inmunofenotípico de diversas poblaciones celulares con una muestra de sangre marcada con anticuerpo monoclonal más fluorocromos y lisada para su lectura en un único tubo de análisis. En nuestro laboratorio, desde el 2007 se utilizó la Técnica de Becton Dickinson: MultiTEST CD3 FITC/CD8 PE/CD45 PerCP/CD4 APC con TruCount y a fines del 2011 se introdujo la Tecnología de Beckman Coulter: TetraCHROME-CD45FITC/CD4-RD1/CD8-ECD/CD3-PC-5 con FlowCOUNT, ambos de plataforma simple. Con el fin de asegurar la reproducibilidad y la calidad con la nueva tecnología se realizó un muestreo comparativo. **Objetivo:** Comparar los resultados de los recuentos de las subpoblaciones linfocitarias, expresados en valores porcentuales y absolutos, utilizando la plataforma simple en dos Citómetros de diferentes marcas y reactivos. **Materiales y Método:** Se analizaron 40 muestras de sangre fresca obtenidas en el laboratorio de pacientes elegidos al azar. Cada muestra se procesó en paralelo con los reactivos de Becton Dickinson y Beckman Coulter. Los Citómetros usados para las lecturas fueron FacsCalibur de Becton Dickinson y Cytomics FC500 de Beckman Coulter. **Resultados:** Se aplicó el Test de Student con un intervalo de confianza del 95% no observándose diferencia en las varianzas obtenidas, encontrándose los siguientes resultados: Estadístico t CD3= -0.99; CDcél/μl= 0.49; %CD4= -0.34; CD4cél/μl= 0.21; %CD8= -0.39; CD8cél/μl= 0.53; el valor crítico de t resultó ser para %CD3= 1.99; CD3cél/μl= 1.99; %CD4= 1.99; CD4cél/μl= 1.99; %CD8= 1.99; CD8cél/μl= 1.99 y P es para %CD3= 0.32; CD3cél/μl= 0.62; %CD4= 0.73; CD4cél/μl= 0.82; %CD8= 0.69; CD8cél/μl= 0.59. **Conclusión:** Al analizar los datos entre ambos equipos no se observan resultados estadísticamente diferentes, considerándose por lo tanto a las dos tecnologías de plataforma simple homólogas.

EVALUACIÓN DEL ENVEJECIMIENTO ERITROCITARIO FISIOLÓGICO POR CITOMETRÍA DE FLUJO.

PAYP013

MA Ensínck, C Biondi, L Racca, C Coturuolo, A Racca
Laboratorio de Inmunohematología. Área Inmunología. Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas. Universidad Nacional de Rosario.

El envejecimiento eritrocitario está asociado a una disminución en el volumen de los glóbulos rojos (GRs), aumento en la densidad celular, pérdida en la asimetría de la membrana con aumento de fosfatidilserina en la capa externa, unión de IgG autóloga y a cambios en la expresión de diferentes proteínas. La principal dificultad en el estudio del mismo es obtener fracciones homogéneas de GRs con la misma edad. El objetivo de este trabajo fue evaluar si las alteraciones que sufren los GRs en el envejecimiento pueden ser detectadas por citometría de flujo (CMF) en sangre entera. GRs al 0.2% en PBS se incubaron con: anti-IgG humana-Alexa488, anti-C3APC (indirecto), Anexina VPE (AV), anti-C59FITC, anti-CD55PE, anti-CD47PE. Se utilizó un citómetro FACSAria II. Teniendo en cuenta que FSC representa el tamaño celular y SSC la complejidad celular interna; asumimos que la población de GRs senescentes (GRSe) se encuentra en la zona de < FSC y > SSC. El % de células IgG+ en GRSe (2.3±1.4%) fue significativamente mayor que en GRJ (0.4%±0.25%) (p<0.002), el % de células C3+ en GRSe (2.2±1.4%) fue significativamente mayor que para GRJ (0.2±0.55%) (p<0.0001). El % de células AV+ en GRSe (1.77±0.50) fue significativamente mayor que para GRJ (0.21±0.06) (p <0.001). La expresión de CD55 y CD59 evaluada a través de la intensidad de fluorescencia media (IFM) fue para CD55 en GRSe (1211.0 ± 274.34) y CD59 en GRSe (1561.6 ± 415.02) significativamente menores que CD55 para GRJ (1395.4 ± 342.18) y CD59 para GRJ (1742.4 ± 469.98) (p<0.001). La IFM de CD47 para GRSe (11869±1046.3) fue significativamente menor que para GRJ (12963.9±1117.45) (p<0.0001). Los resultados muestran diferencias significativas en los parámetros evaluados entre GRSe y GRJ y coinciden con los obtenidos por medio de técnicas separativas convencionales. Por lo tanto esta metodología, utilizando poca cantidad de muestra y mínima manipulación, permitiría: 1- profundizar el estudio de las lesiones en los GRs durante su envejecimiento y 2- evaluar la calidad de las bolsas en los bancos de sangre al momento de ser utilizadas.

INHIBICIÓN DEL CLUSTER PERINUCLEAR MITOCONDRIAL (CPNM) Y DE LA AUTOFAGIA POR VINCISTINA (VCR) EN CÉLULAS DEL LINFOMA DE BURKITT (LB): SU USO POTENCIAL PARA SENSIBILIZACIÓN A DROGAS CITOTÓXICAS

PAYP014

LI Kornbliht, V Cavaliere, T Lombardo, S Costantino, E Alvarez, G Blanco
1 Servicio de Hematología Hospital de Clínicas UBA 2 LIT-IDEHU-CONICET-FFyB-UBA 3 LaITo-IDEHU CONICET- FFyB-UBA

Las células tumorales recurren a la autofagia como una vía de resistencia a la muerte inducida por fármacos. Se conocen varios mecanismos dependientes de la autofagia que mejoran la sobrevida tumoral. Entre ellos, la eliminación de las mitocondrias (mitofagia) sería responsable de la resistencia a fármacos que producen apoptosis por vía mitocondrial. En algunas células neoplásicas, las mitocondrias son transportadas hacia la zona perinuclear para ser eliminadas por autofagia. En este trabajo, buscamos identificar autofagia basal y presencia de CPNM en células LB (Raji) y en leucemia promonocítica (U937) y evaluar el efecto de VCR, como inhibidora de microtúbulos (MT), sobre los CPNM. La masa mitocondrial se evaluó con sonda mito-tracker roja (SMTR), la distribución de mitocondrias polarizadas con tetrametilrodamina-éster (TMRE) (ambas c/microscopio de fluorescencia) y la autofagia por tinción de autofagosomas con monodancilcadaverina (MDC) que por excitación UV emiten fluorescencia azul (citómetro de flujo). Drogas utilizadas: rapamicina 0.25 a 2uM (inhibidor mTOR, inductor de autofagia), VCR 1uM (inhibidor de MT), trióxido de arsénico (ATO) 1-3uM (subcitotóxica) y 5-15uM (citotóxica), ácido valproico (VPA) 1-4mM (subcitotóxica) y 5-8mM (citotóxica) (inhibidor de HDAC). Las células LB, en condiciones basales, mostraron autofagosomas prominentes y más de un 20% se detectó como positivas (citometría de flujo). Los niveles basales se incrementaron con Rapamicina hasta un 70% a las 24hs. El flujo autofágico se bloqueó al incubarse 2 hs con VCR. ATO y VPA, a dosis subcitotóxicas, incrementaron la autofagia pero, a dosis citotóxicas, la disminuyeron (> 40%) a las 72hs. Identificamos la presencia de CPNM en la línea Raji pero no en la línea U937 (tinción SMTR y TMRE). VPA aumentó la definición del CPNM mientras que VCR alteró por completo el CPNM creando una distribución subcelular citoplasmática muy similar a las células U937 en condiciones basales. Concluimos que la VCR, en dosis subcitotóxicas, tiene como blanco molecular el CPNM, bloqueando la mitofagia y siendo un potencial agente sensibilizante de LB a drogas citotóxicas que inducen apoptosis por vía mitocondrial

MECANISMO DE RESISTENCIA A LAS DROGAS DEPENDIENTE DE BNIP3 Y DEL SISTEMA DE MICROTÚBULOS (MT) EN CELULAS DE LINFOMA DE BURKITT (CLB): REVERTIDO POR VINCISTINA (VCR) Y DROGAS EPIGENÉTICAS

PAYP015

LI Kornbliht, T Lombardo, V Cavaliere, S Costantino, E Alvarez, G Blanco
(1) Servicio de Hematología Hospital de Clínicas-UBA (2) LIT-IDEHU-CONICET-FFyB-UBA (3) LaITo-IDEHU CONICET- FFyB-UBA

El trióxido de arsénico (ATO) se utiliza como monodroga en el tratamiento de la leucemia promielocítica mientras que el inhibidor de proteasoma (InPr) Bortezomib en mieloma múltiple. Su aplicación a otras neoplasias hematológicas es difícil por las altas dosis requeridas para inducir muerte a las células tumorales y lograr eficacia clínica. Sin embargo, terapias combinadas y dirigidas a blancos moleculares pueden revertir la resistencia y reducir la dosis efectiva. En estudios previos, mostramos que la combinación ATO+ InPr (MG132) resultó antagónica para inducir muerte celular en CLB (línea celular Raji). Ahora exploramos un blanco molecular de resistencia a la inducción de muerte por drogas dependiente del silenciamiento epigenético de BNIP3 (miembro "BH3-only" de familia de proteínas Bcl2) utilizando bajas dosis de ácido valproico (VPA) +VCR para sensibilizar las CLB a la combinación ATO+ InPr. Metodología: cultivo de Raji en presencia de: 0-20uM ATO, 0-2.5 uM MG132, 1uM azacitidina (AZA) y 3mM valproico VPA (ambas epigenéticas) y 1uM VCR (inhibidor MT) curva dosis respuesta: lectura de la tinción con Ioduro de Propidio como marcador de muerte celular y FDA de actividad metabólica en citómetro de flujo. Las curvas abarcaron de 0-20uM ATO y 0-2.5 uM MG132 para obtener efecto citotóxico de 10-100% en 72 hs Interacción de drogas: por isoblograma y determinación del índice de combinación (CI) por el método de Chou-Talalay (sinergismo(CI<1), aditividad (CI=1) o antagonismo (CI>1) Expresión proteína BNIP3: por inmunofluorescencia con anticuerpo anti-BNIP3 Resultados: el silenciamiento epigenético de BNIP3 se revirtió con AZA y VPA. La expresión del BNIP3 se localizó en área perinuclear. La interacción ATO+MG132 en presencia de VPA (dosis subcitotóxica) se mantuvo antagónica. Pero en presencia VPA+VCR, la distribución perinuclear de BNIP3 se desplazó hacia el citoplasma y la interacción ATO+MG132 fue sinérgica Conclusión: CLB, sensibilizadas con bajas dosis de VCR+VPA, presentan sinergismo entre ATO y el InPr permitiendo reducir mucho la dosis de ambas drogas. El mecanismo de resistencia a las drogas, revertido por el VCR+VPA, sería dependiente del BNIP3 y de la red de microtúbulos.

EVOLUCIÓN DEL VALOR DE REFERENCIA PARA EL CAMBIO EN PARÁMETROS DEL HEMOGRAMA

PAYP016

L. Maydana, F. Ventimiglia, S. Martinez Methol, L. D'Agostino Laboratorio D'Agostino-Bruno La Plata.

Introducción: La diferencia crítica o valor de referencia para el cambio (RCV) permite establecer si el cambio entre dos resultados sucesivos de un análisis es debido a la variabilidad biológica y analítica del mismo o a una alteración en la homeostasis del paciente. Es un parámetro de gran utilidad tanto para el médico en la toma de decisiones durante el monitoreo de un tratamiento como para el bioquímico a la hora de validar un resultado. La mejora en el desempeño del contador hematológico, reflejada en el coeficiente de variación (CV), permite percibir valores de RCV más pequeños, y de esta manera ser más minuciosos en la toma de decisiones. **Objetivos:** Evaluar los criterios de validación del hematocrito (HCT), hemoglobina (HGB), leucocitos (WBC), glóbulos rojos (RBC), plaquetas (PLT) y volumen corpuscular medio (VCM), basados en los valores de RCV, obtenidos en nuestro laboratorio durante los últimos 3 años. **Materiales y Métodos:** Las prácticas evaluadas fueron HCT, HGB, WBC, RBC, PLT y VCM. El contador utilizado fue un Sysmex XS-1000 (Roche). Se calculó el RCV mediante la ecuación de Fraser: $RCV = 1.96 \times 2 \frac{1}{2} \times (VB2 + CV2) \frac{1}{2}$, donde VB es la variabilidad biológica obtenida de la base de datos de Ricos y col., CV es la variabilidad analítica histórica promedio obtenida de cada análisis registrada en nuestro control de calidad interno y 1.96 es el factor Z relacionado con el número de desvíos estándar correspondientes a la probabilidad buscada (95%). **Resultados:** Valores de RCV obtenidos en el año 2010 y 2013 respectivamente. HCT: 10% y 9%; HGB: 10% y 11%; WBC: 37% y 31%; RBC 11% y 10%; PLT: 39% y 33%; VCM: 6% y 5%. **Conclusiones:** Al evaluar los datos del RCV durante los últimos 3 años observamos una mejora en el desempeño del contador hematológico de manera tal que nos ha permitido reflejar cambios clínicos significativos más pequeños en la mayoría de los parámetros evaluados. Actualmente, utilizamos el RCV como una alarma de tipo delta-check que compara si el resultado obtenido difiere clínicamente del antecedente del paciente. Por el momento, no hemos introducido modificaciones en los criterios de validación utilizados, sino que mantenemos los establecidos en el 2010. Los datos desde 2010 a la fecha con coincidentes con datos reportados previamente por otro laboratorio regional, con otra metodología (Maydana y col. SAH 2009)

COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS ANALÍTICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE FERRITINA SÉRICA.

PAYP017

L Colitto, M Fernández, N Gómez Del Mónaco, S Pennesi
Hospital de Niños "Dr R. Gutiérrez" (HNRG). CABA. Argentina

Objetivo: Evaluar los resultados de Ferritina (Ft) sérica obtenidos por 2 metodologías distintas: Quimioluminiscencia (CMIA-ArchitectO) y Enzimoinmunoensayo (MEIA-AxSYM). **Introducción:** Existe relación directa entre la concentración de ferritina sérica y los depósitos de hierro. El déficit de hierro se instala previo a la anemia manifiesta, la detección del estado carencial es importante para el control de la anemia nutricional. (Niños Ft<10 ng/ml, Adolescentes Ft<12 ng/ml). Su medición también es útil en el control de sobrecarga de hierro en pacientes politransfundidos (Ft>1000 ng/ml). La Ft es un reactante de fase aguda. **Materiales y métodos:** Se analizaron 144 sueros de pacientes pediátricos que concurren al Servicio de Hematología. Las muestras se procesaron en ambos equipos en paralelo. **Estadística:** Se utilizó el Programa GraphPad Prism versión 6.01. Se realizó Correlación, T-Test y Bland-Altman. **Discusión:** Se obtiene un R²=0,9877 similar al declarado por el fabricante (0,986). El T-Test para muestras pareadas indica diferencia estadísticamente significativa (p<0,001) y el análisis de Bland-Altman muestra discordancia entre ambos métodos. Se analizaron los datos por rangos, tomando como valor de referencia 18-300 ng/ml. De acuerdo con el estudio de Regresión Lineal, se observa que el método Architect mide entre un 45-55% por encima a lo determinado por AxSYM en valores fuera del rango de referencia.

Conclusión: La tendencia a valores incrementados de ferritina por Architect en pediatría, particularmente en el Servicio de Hematología, son críticos ya que implican un cambio en la conducta médica. Conforme a los resultados obtenidos, y dada la necesidad de introducir la metodología CMIA, sugerimos utilizar el valor de Ft <18 ng/ml como marcador de deficiencia de hierro y Ft >1500 ng/ml para indicar tratamiento quelante en aquellos pacientes que cumplan con el resto de los criterios de quelación hasta tanto se establezcan los Valores de Referencia para nuestra población.

¿PODEMOS MEDIR EL EQUIVALENTE DE HEMOGLOBINA RETICULOCITARIA (RETHe) EN NUESTROS LABORATORIOS?

PAYP018

D Martínez, C Chernicoff, P Biaggioni
Hospital General de Agudos "Dr. Teodoro Alvarez",
Unidad Asistencial "Dr. Cesar Milstein"

El canal de reticulocitos del contador hematológico Sysmex XT-2000i provee el parámetro llamado RET-Y por medición del histograma de dispersión de luz frontal (forward scatter). Este parámetro depende del contenido de hemoglobina (Hb) reticulocitaria (CHR), de la misma forma que RBC-Y depende del contenido de Hb de los eritrocitos. Es posible por tanto, obtener una ecuación (Ec) que permita el cálculo de un parámetro que estime a la CHR, nombrado equivalente de Hb reticulocitaria (RetHe). La bibliografía reporta la Ec RetHe= 5.5569 e0.001RET-Y.

Los objetivos del presente trabajo fueron determinar la Ec que permita obtener el valor de RetHe en nuestros equipos; evaluar el sesgo y coeficientes de variación (CV) a partir de los datos obtenidos de controles de calidad (QC); estimar el error total (ET); y comparar las Ec. Se emplearon dos contadores hematológicos Sysmex XT-2000i (S1 y S2), QC internos con peer-group (tres niveles). Se obtuvieron las Ec RetHe = 6,4339e0,001RET-Y y RetHe = 6,0893e0,0008RET-Y a partir de la curva de regresión entre RBC-Y y HCM. Al comparar las Ec entre sí y con la Ec de la bibliografía se obtuvieron diferencias significativas (p<0,05). En ambos contadores se obtuvieron un BIAS% máximo de 2,34%, un CV máximo de 2,03% y un ET máximo de 6%. No se hallaron diferencias significativas entre equipos para los resultados arrojados para los tres niveles de QC (p>0,05). Los CV intraensayo fueron 0,51±0,08% y 0,01±0,03%; los CV interensayo fueron 1,14±0,27% y 0,01±0,03%; para S1 y S2 respectivamente. Estos resultados permitirán a ambos laboratorios obtener valores de RetHe con un ET y CV aceptables. Nuestros laboratorios pueden continuar con la puesta a punto de esta determinación, relevante para evaluar el hierro disponible. Los laboratorios que opten por este tipo de cálculo deben obtener su propia Ec.

CUANTIFICACIÓN DE LA ENFERMEDAD MÍNIMA RESIDUAL EN LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA PHILADELPHIA POSITIVA

PAYP019

C Ferri, S Pennesi, C Riccheri, J Bietti, A Cedola, L Aversa

M Lorenzetti, M Preciado, M Bianchini, I Larripa
Laboratorio de Genética Hematológica IMEX, CONICET-ANM,
Depto Genética, IIHEMA-Academia Nacional Medicina de Buenos Aires.
Grupo Argentino de Tratamiento de la Leucemia Aguda (GATLA). Servicio de Hematología Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez. Laboratorio de Biología Molecular, División Patología, Hospital de Niños Ricardo Gutiérrez.

Introducción: El gen de fusión BCR-ABL1 producto de la t(9;22)(q34;q11), denominado cromosoma Philadelphia (Ph), se observa en varias entidades oncohematológicas. En la leucemia linfoblástica aguda (LLA) pediátrica se detecta hasta en un 5% de los casos, siendo la isoforma e1a2 la más prevalente, originando la oncoproteína P190. Los pacientes portadores de esta alteración poseen muy mal pronóstico y alta probabilidad de recaída con el tratamiento convencional es por ello que se han desarrollado protocolos más agresivos incluyendo imatinib. **Objetivo:** Cuantificar el nivel de los transcritos BCR-ABL1 en pacientes pediátricos LLA-Ph+ (protocolo GATLA LLA-PH1+2011) a fin de estimar la respuesta al tratamiento con quimioterapia más Imatinib (300mg/d). **Materiales y métodos:** Se analizaron 30 pacientes (mediana de edad: 10 años) durante un período de seguimiento de 20 meses. Además para determinar el valor basal de referencia se estudiaron 11 muestras de médula ósea LLA-Ph+ al diagnóstico previo al tratamiento. La cuantificación de los transcritos BCR-ABL1 se llevó a cabo por qRT-PCR siguiendo el protocolo del European Against Cancer Program. La curva estándar se realizó a partir de diluciones plasmídicas conteniendo el rearreglo e1a2. La respuesta al tratamiento se expresó como reducción Log con respecto al valor basal de referencia. **Resultados:** El valor basal de referencia de BCR-ABL1/ABL1 al diagnóstico fue de 55,5% (rango 29%-92%). De los 30 casos evaluados por qRT-PCR un 53% (16/30) cuentan con más de 1 estudio molecular. Al día 33 de tratamiento el 16% (5/30) de los casos presentaron una reducción logarítmica ≥ 3 Log, mientras que al día 140 el 87,5% (7/8) alcanzó los 3 Log de reducción respecto del valor basal de referencia. Considerando solamente aquellos casos con más de 1 estudio (n=16) un 50% (8/16) alcanzó una reducción ≥ 3 Log y la mantuvo, un 31% (5/16) no la logró y el 19% (3/16) restante la perdió. **Conclusiones:** nuestros datos indican que el nivel del clon leucémico disminuye significativamente durante el tratamiento, llegando en algunos casos a niveles indetectables, lo cual indicaría una buena respuesta a la terapia combinada con menor probabilidad de recaída.

ÁCIDO VALPROICO (VPA), DROGA EPIGENÉTICA QUE INDUCE AUTOFAGIA Y PROTEGE A LAS CÉLULAS DE LINFOMA DE BURKITT (LB) DE LA MUERTE INDUCIDA POR HIPOXIA

PAYP020

L Kornbliht, T Lombardo, V Cavaliere, S Costantino, E Álvarez, G Blanco

1- Servicio de Hematología Hospital de Clínicas-UBA 2- LIT-IDEHU-CONICET-FFyB-UBA 3- LaITo-IDEHU CONICET- FFyB-UBA

La autofagia es un proceso de autoeliminación de organelas intracelulares mediante autofagosomas que luego se unen a los lisosomas. En neoplasias, su rol es controvertido ya que puede promover tanto sobrevida como muerte celular. La microscopía de fluorescencia (MF) permite el estudio simultáneo de autofagia y muerte, pero la cuantificación es limitada. La monodancylcadaverina (MDC), sonda fluorescente azul excitable con luz UV, permite detectar y cuantificar autofagosomas por citometría de flujo (CF). Evaluamos el efecto del VPA en células de LB (Raji) en normoxia e hipoxia. **Método** Las células LB se incubaron a 37°C en normoxia e hipoxia (atmósfera <0.1%O₂ introduciendo una mezcla 95%N₂ 5%CO₂ en cámara MIC-101 mediante flow meter dual) y se marcaron con MDC, yoduro de propidio (PI) y diacetato de fluoresceína (FDA). Mediante CF de láser dual, los autofagosomas se detectaron por excitación UV y emisión de fluorescencia azul, mientras que la muerte celular se detectó por excitación con láser azul y emisión de fluorescencia verde (FDA) y roja (PI). Además se evaluó por microscopía de fluorescencia (MF) para correlacionar con criterios morfológicos. **Resultados** La MF mostró un rango continuo de fluorescencia entre MDC- y MDC+. Por CF, el 20% de las células sin tratar fueron MDC+. Rapamicina, inductor de autofagia, aumentó este porcentaje en forma dosis dependiente (19,4/26,7/45,8/55,8/63,4% con 0,25/0,5/1/2/3 μ M respectivamente). En normoxia, VPA a dosis subcitotóxicas (<4mM) indujo un incremento dosis dependiente de células MDC+. A dosis mayores, la muerte celular aumentó progresivamente siendo 6.22 mM el efecto letal (DL) 50% y 8mM el DL 90%. Con dosis de VPA > DL30%, la autofagia disminuyó progresivamente. En hipoxia, más del 97% de las células LB sin tratar murieron a las 72 horas. Pero, tratadas con VPA 8mM la sobrevida se incrementó a un 53% y más del 50% de estas células fueron MDC+ por CF indicando la presencia de autofagia.

Conclusión La CFM de células LB marcadas con MDC/FDA/PI y tratadas con VPA demostró una relación inversa entre autofagia y muerte celular. VPA impidió la muerte por hipoxia de las células LB, efecto que se asoció al aumento de autofagia.

INMUNOTIPIFICACIÓN DE ANTÍGENO D Y GRUPO ABO EN UNA POBLACIÓN DEL NEA

PAYP021

L. Kovach, R. Tejada, V. Ivan, G. Ojeda

Cátedra Hematología Clínica - Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura - UNNE - Av. Libertad 5400 - Corrientes - Argentina

El estudio de las frecuencias de los grupos sanguíneos ABO y Rh en la Argentina revierte particular interés dado el elevado acervo genético con el que cuenta su población debido principalmente al origen inmigrante de muchos de sus habitantes así como también los posibles entrecruzamientos genéticos logrados con poblaciones nativas. El objetivo del presente trabajo fue determinar las frecuencias fenotípicas y génicas de los sistemas sanguíneos ABO y Rh en una población del nordeste argentino. Se trabajó con muestras de sangre anticoaguladas con EDTA-Na2 obtenidas de donantes voluntarios, pertenecientes a distintas localidades de las provincias de Chaco (Quitilipi n=15 y Puerto Vilelas n= 35) y Corrientes (Corrientes Capital n= 32 y San Miguel n= 32), siendo incluidas N= 114 personas para la realización de este estudio, con edades comprendidas entre 4 y 63 años. La fenotipificación se realizó en placa con sueros monoclonales IgM (Anti-A, Anti-B, Anti-D, Anti-C, Anti-c, Anti-E y Anti-e) de marca Rediar*. Para el cálculo de las frecuencias génicas del sistema ABO se ha aplicado el método de Salvat Puig, 2001. Las frecuencias de los haplotipos Rh fueron determinadas por las fórmulas propuestas por Nagervadze et al., 2011.

Sistema	Fenotipo	n	Porcentaje	Alelo	Frecuencia génica
ABO	O	70	61,4	O	0,783
	A	39	34,21	A	0,195
	B	4	3,51	B	0,022
	AB	1	0,88		
	CCDEE	0	0	CDE	0,040
Rh +	CCDEe	6	5,26		
	CCDee	22	19,29	CDe	0,439
	CcDEE	1	0,88		
	ccDEE	2	1,75	cDE	0,132
	CcDEe	31	27,19		
Rh -	CcDee	35	30,7	cDe	0,063
	ccDEe	9	7,89		
	ccDee	3	2,63	cde	0,000
	ccdee	5	4,38	cde	0,209
	Ccdee	0	0	Cde	0,000
	ccdee	0	0	cde	0,000

La determinación del fenotipo ABO y Rh, de costo relativamente bajo, más allá de su aplicación médica y legal puede ser utilizada para el estudio poblacional, dado que estos estudios ofrecen datos del mestizaje biológico y sobre el origen de las poblaciones. El cálculo de las frecuencias génicas obtenidas a partir del fenotipo permite una mejor comparación de la distribución de los grupos sanguíneos en diferentes poblaciones.

VALOR DEL CD34 EN SANGRE PERIFÉRICA COMO PREDICTOR DE BUENA RECOLECCIÓN

PAYP022

B. Rosales Ostriz, J. Vizhnay, A. Banchieri, N. Halperin, C. Malusardi, A. Altube, A. Vellisce, A. Pernazza, N. Villaravid, D. Santamarina, H. Longoni Hospital de Clínicas "José de San Martín"; CABA. (1- Traspante de Médula Ósea, 2- Citometría de Flujo, 3- Servicio de Hemoterapia)

Objetivo: determinar curva de CD34 en sangre periférica, para optimizar recolección. Desde junio de 2012 hasta julio de 2013, en 24 pacientes consecutivos en plan de recolección de precursores hematopoyéticos, se realizó recuento de CD 34 en sangre periférica a partir del 4° día de la movilización con factores y hasta lograr el producto deseado ($\geq 2,5$ CD34/kg) o caída en la curva de CD34. Se realizaron un total de 28 movilizaciones (4 pacientes fueron movilizadas 2 veces cada uno). En 14 movilizaciones se logró el producto buscado con 1 sola recolección, en 7 movilizaciones con 2 recolecciones, en 1 movilización en 3 recolecciones y en 6 movilizaciones no se logró en forma individual el valor mínimo de CD34 esperado. En los que requirieron un solo procedimiento el valor promedio de CD34 en sangre periférica (S/P) fue al 4° día 45/ul (23-100) y al 5° día 77/ul (46-100), en los que requirieron más de una recolección para obtener el valor deseado, el valor promedio de CD34 en S/P fue de 16/ul (9-38) al 4° día, 23,65/ul (11-50) al 5° día, 23/ul (11-59) al 6° día y 16/ul al 7°. En las movilizaciones en que no se logró recolectar el mínimo esperado de CD34, el valor en S/P fue 6/ul (2-8) al 4° día, 9/ul (2,56-15) al 5° día, 8/ul (4-13) al 6° día y 4/ul al 7° día. Conclusión: en nuestra modalidad de trabajo, inicio de filgrastin 5-10 ug/kg/día (900 ug/día menos de 100 kg y 120 ug/día más de 100 kg) administrados cada 12 hs, el pico de CD34 se ve al 5° día y después cae. Que el valor de CD34 al 4° día de movilización es predictivo de una buena recolección. Los que tuvieron alto CD34 al 4° día de movilización recolectaron en 1 solo procedimiento, los que tuvieron valores entre 9 y 18 CD34/ul, requirieron de 2 o 3 recolecciones, en los que tuvieron un valor menor de 8 CD34/ul al 4° día de la movilización no se logró recolectar lo requerido. En este último grupo de pacientes parece justificable no realizar la leucoféresis, evitando el riesgo de la colocación de un catéter venoso central y el gasto tanto en lo económico, como en tiempo de personal.

EL CONSENTIMIENTO INFORMADO EN HEMATOLOGÍA

PAYP023

M. Cugliari

Complejo Médico Churrucá-Visca

Introducción: El consentimiento informado (CI) es la declaración de voluntad de un sujeto capaz y libre con respecto a la propuesta del médico acerca de la aplicación de un procedimiento diagnóstico o terapéutico, de no mediar una situación de urgencia. A pesar de su obligatoriedad, muchas cuestiones relacionadas al CI aún son desconocidas para muchos profesionales y no se utiliza por diversas causas. **Objetivo:** Evaluar el uso del CI entre los hematólogos de diferentes ámbitos, dar a conocer su importancia y plantear diferentes modelos preimpresos para ser utilizados en las situaciones más frecuentes de la práctica hematológica. **Método:** Se realizaron encuestas anónimas a 17 hematólogos que se desempeñan en un total de 12 centros de la CABA (6 privados, 3 públicos, 1 universitario y 2 consultorios particulares). Fueron consultados acerca de la confección de CI en un total de 510 procedimientos indicados: 170 tratamientos anticoagulantes (TA), 170 tratamientos quimioterápicos o inmunológicos (QT) y 170 biopsias de médula ósea (BMO). No se firmó CI en ninguno de los TA (0%), en 145 QT (85%) y en 55 BMO (32%). Ninguno de los centros cuenta con modelo de CI institucional para TA, 7 centros cuentan con modelo para BMO (o procedimientos invasivos) y 8 para QT. En base a los datos obtenidos, se confeccionó en 1° lugar un listado de las prestaciones hematológicas más frecuentes en las que se recomendará el uso de CI (TA, QT, BMO, TIT, transfusión, plasmaféresis, TAMO, esplenectomía). En 2° lugar se redactaron CI adaptados para c/u de ellas, en base a modelos utilizados en instituciones nacionales y extranjeras, describiendo riesgos y beneficios específicos. **Conclusión:** A pesar de las múltiples dificultades en nuestra práctica médica actual, las limitaciones personales y la escasez de modelos institucionales, constituyen las causas más frecuentes de ausencia de CI. La intención de esta presentación es reconocer la relevancia y obligatoriedad del CI, concientizar a los hematólogos para su utilización y facilitar modelos preimpresos más específicos de nuestras actividades, los cuales incluso podrían ser evaluados por la SAH para su recomendación a los socios.