

## **Resultados relevantes en biología molecular, enzimopatías y citogenética en el período 1996-2010**

### **Relevant results in molecular Biology, enzymopathies and cytogenetics during 1996-2010**

*A la memoria del Dr. Bruno Colombo, fundador del Instituto de Hematología e Inmunología y del Departamento de Bioquímica en 1969, devenido hoy Departamento de Biología Molecular y Celular.*

**DrC. Ana María Amor-Vigil, DrC. Gisela Martínez-Antuña, Dra. Kalia Lavaut-Sánchez, Téc. Graciela Pérez-Diez de los Ríos, Téc. Ana Hernández-Martínez, DrC. Marianela Estrada-del Cueto**

Instituto de Hematología e Inmunología. Ciudad de La Habana, Cuba.

---

#### **RESUMEN**

El Departamento de Biología Celular y Molecular del Instituto de Hematología e Inmunología incluye 4 áreas: biología molecular, hemoglobinopatías, enzimas y membrana eritrocitaria y citogenética. Se presentan aspectos relevantes del trabajo desarrollado en los últimos años que comprende investigaciones en las talasemias que permitieron conocer las bases moleculares de estas hemoglobinopatías en nuestra población. En el campo de la biología molecular se desarrolló inicialmente la técnica del *southern blot*; posteriormente, la de la reacción en cadena de la polimerasa y la transcripción inversa, que han sido muy útiles en el diagnóstico y seguimiento de pacientes con hemopatías malignas. La presencia de alteraciones citogenéticas (monosomías, trisomías, translocaciones, inversiones y deleciones) ha sido ampliamente evaluada en enfermedades hematológicas, con gran utilidad también en el diagnóstico, pronóstico y seguimiento de los pacientes. En cuanto a las enzimopatías, se pudo conocer la alteración molecular de variantes deficientes de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y con el desarrollo de las técnicas para el

estudio de las proteínas de la membrana eritrocitaria, se determinó la alteración bioquímica de enfermos con esferocitosis hereditaria (EH).

**Palabras clave:** hemoglobinopatías, biología molecular, citogenética, enzimopatías, membranopatías.

---

## ABSTRACT

The Department of Cellular and Molecular Biology of the Institute of Hematology and Immunology includes 4 areas: molecular biology, hemoglobinopathies, enzymes and erythrocytic and cytogenetic membrane. Authors show relevant features of work developed in past years including researches of thalassemia allowing us to know the molecular bases of these hemoglobinopathies in our population. In the field of molecular biology initially we developed the Southern Blot technique; later, that of the polymerase chain reaction (PCR) and the inverse transcription, both very useful in the diagnosis and follow-up of patients presenting with malignant hemopathies. The presence of cytogenetic alterations (monosomies, trisomies, translocations, inversions and deletions) has been fully assessed in hematologic diseases and also with a great usefulness in the diagnosis, prognostic and follow-up of the patients. As regards the enzymopathies, it was possible to know the molecular alteration of variants lacking in glucose-6-phosphate dehydrogenase and with the development of the techniques for the study of proteins of erythrocytic membrane it was possible to determine the biochemical alteration of patients presenting with hereditary spherocytosis (HS).

**Key words:** Hemoglobinopathies, molecular biology, cytogenetics, enzymopathies, membrane diseases.

---

## INTRODUCCIÓN

El desarrollo del Departamento de Bioquímica del Instituto de Hematología e Inmunología (IHI) se ha incrementado progresivamente a partir de su creación en 1969. En publicación anterior dedicada al 30º Aniversario del IHI, se expusieron los resultados alcanzados hasta 1996.<sup>1</sup> A partir de esa fecha, se culminaron algunos trabajos y comenzaron nuevas investigaciones.

## BIOLOGÍA MOLECULAR

En 1982 ya se había iniciado la aplicación de la biología molecular al estudio de las hemoglobinopatías. Esto significó la continuación y profundización del estudio de estas enfermedades o alteraciones que posibilitó la introducción del diagnóstico prenatal de la anemia drepanocítica y posteriormente, también el diagnóstico

---

prenatal de las hemofilias A y B. Ambas tecnologías, desarrolladas por primera vez en el IHI, fueron transferidas al Centro Nacional de Genética Médica y actualmente están extendidas a todo el país. Los estudios del ácido desoxirribonucleico (ADN) permitieron determinar las bases moleculares de las  $\beta$ -talasemias, trabajo cuya continuidad hasta el 2001 posibilitó establecer los diferentes tipos de mutaciones y sus frecuencias.<sup>2,3</sup> Como resultado de las investigaciones moleculares de las hemoglobinopatías, el Departamento de Biología Molecular del IHI es actualmente Centro de Referencia en el diagnóstico de estas enfermedades.

En la década de los años 80 del siglo pasado, también se había iniciado el estudio de clonalidad en los síndromes linfoproliferativos (SLP) por la técnica de *Southern blot*.<sup>4</sup> El objetivo era determinar la existencia de una población clonal de linfocitos, la que es indicativa de la presencia de un proceso maligno. Actualmente se realiza por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR, del inglés *polymerase chain reaction*), que es de gran utilidad para el diagnóstico más preciso de estas entidades, para la determinación de la línea linfocítica B o T comprometida en el proceso y para la estadificación de la enfermedad.<sup>5</sup> De particular importancia ha sido su aplicación al estudio de los linfomas cutáneos, que por presentar manifestaciones en la piel son tratados frecuentemente como procesos dermatológicos, razón por la cual el diagnóstico se realiza generalmente en etapas avanzadas de la enfermedad.<sup>6</sup>

Poco tiempo después, se iniciaron los estudios de las bases moleculares de algunos tipos de leucemia. En sus inicios con la técnica de *Southern blot*, con la investigación de 2 genes híbridos: BCR-ABL, característico de la leucemia mieloide crónica (LMC);<sup>7</sup> y PML-RAR $\alpha$ , presente en la leucemia promielocítica (LPM).<sup>8</sup> Posteriormente se continuaron estas mismas investigaciones con la técnica de PCR y más recientemente, con la reacción de transcripción inversa (RT, por sus siglas en inglés), que permite sintetizar ADN complementario a partir de ácido ribonucleico (ARN).

Con la combinación de estas técnicas, que se conoce como RT-PCR, se puede realizar el estudio del ARN mensajero, lo que ha permitido incrementar la sensibilidad del análisis de las alteraciones moleculares presentes en las leucemias. Se inició su aplicación con el estudio del gen PML-RAR $\alpha$ <sup>9</sup> y poco tiempo después se reportó la frecuencia de este gen en un grupo de pacientes atendidos en diferentes servicios de hematología del país.<sup>10</sup>

Actualmente existen tratamientos para la LPM y la LMC que actúan de manera específica sobre el defecto molecular que causan los genes de fusión que les caracterizan: el ácido transretinoico (ATRA) para la LPM y el imatinib para la LMC.<sup>11,12</sup> El estudio del gen PML-RAR $\alpha$  de un grupo de pacientes tratados con ATRA, permitió evaluar la respuesta al tratamiento desde el punto de vista molecular, y los resultados confirmaron lo descrito por otros autores en cuanto a pronóstico y respuesta al tratamiento.<sup>13</sup> Los hallazgos del estudio molecular (gen BCR-ABL) y citogenético (cromosoma Filadelfia, Ph $\phi$ ) realizado a pacientes con LMC tratados con imatinib, permitieron conocer la respuesta al tratamiento, tanto cuando se ha utilizado como droga de primera línea,<sup>14</sup> como cuando se ha administrado en pacientes resistentes o intolerantes al interferón  $\alpha$  recombinante.<sup>15</sup>

Otro de los estudios moleculares iniciales fue el estudio por *Southern blot* de los reordenamientos del gen MLL en la banda cromosómica 11q23.<sup>16,17</sup> La presencia de estas alteraciones se asocia con resultados clínicos desfavorables y son particularmente frecuentes en niños.

Desde 1996 se ha mantenido el estudio de otras alteraciones moleculares en las leucemias linfoides agudas (LLA) y las leucemias mieloides agudas (LMA), que son importantes para el pronóstico de la enfermedad o bien para decidir un tratamiento muy específico, como es el caso de la LLA cuando presenta el gen BCR-ABL, la cual debe ser tratada con imatinib.

En las LLA, además del gen BCR-ABL, se estudió el gen MLL-AF4, que a pesar de aparecer con muy baja frecuencia, es un indicador de mal pronóstico, y está asociado con la LLA pediátrica; y el TEL-AML1, característico de la LLA tipo B (LLA-B), que se describe como la alteración molecular más común en este tipo de leucemia y está asociado con una evolución muy favorable de la enfermedad. En un estudio preliminar se encontró que la frecuencia del gen TEL-AML1 en un grupo de pacientes pediátricos con LLA, fue del 25 %, lo que coincidió con lo reportado por otros autores.<sup>18</sup>

En cuanto a las LMA, se ha estandarizado el estudio de 2 genes híbridos: el AML1-ETO y el CBF $\beta$ -MYH11. Ambas alteraciones están implicadas en la represión de la transcripción de genes que promueven la diferenciación celular y están asociadas con un pronóstico favorable.

La frecuencia de aparición de las alteraciones moleculares encontradas hasta el año 2001 en las leucemias agudas (LLA y LMA) pediátricas en Cuba, y la detección de enfermedad mínima residual (EMR) mediante el análisis evolutivo de las alteraciones moleculares presentes en los pacientes después del tratamiento, fue evaluada en un trabajo de un curso de verano por una estudiante de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Groningen en Holanda.<sup>19</sup> Este trabajo fue premiado ese año en dicha universidad entre todos los presentados por los alumnos de esa facultad.

Después del 2001, se comenzó a estudiar la duplicación interna en tándem (DIT) del gen FLT3<sup>20</sup> en las LMA, que se considera como de pronóstico desfavorable; y más recientemente, en 2008, se comenzó a analizar también en las LMA la mutación A del gen NPM1, que es la más frecuente entre las más de 30 que se han descrito.<sup>21</sup>

La importancia que ha adquirido el trasplante alogénico de células hematopoyéticas (TACH) como opción de tratamiento para la curación de diferentes enfermedades hematológicas, ha hecho necesario disponer de técnicas suficientemente sensibles e informativas para conocer el éxito de este proceder terapéutico. El estudio del quimerismo mediante técnicas de biología molecular, se ha generalizado como análisis de rutina en los centros dedicados a la terapia de trasplante. A partir del año 2002, se desarrolló en el IHI el estudio molecular del quimerismo, con lo que ha sido posible conocer si la implantación de las células hematopoyéticas del donante en el paciente ha sido exitosa.<sup>22-24</sup>

## CITOGENÉTICA

Se ha mantenido el estudio citogenético mediante técnicas convencionales (cariotipo de bandas G), para la evaluación de las alteraciones cromosómicas. Este estudio permite detectar, tanto las alteraciones numéricas (monosomías, trisomías, etc.), como las estructurales (translocaciones, inversiones, deleciones, etcétera).

La información que aporta la citogenética, además de ser útil para el diagnóstico, es importante para determinar el pronóstico de algunas neoplasias hematológicas. Además, el conocimiento de la alteración cromosómica asociada con un determinado diagnóstico, permite el estudio evolutivo de la enfermedad y valorar la respuesta al tratamiento.

La presencia del cromosoma Ph<sup>+</sup> en la LMC al inicio de la enfermedad, ofrece la posibilidad de evaluar la respuesta al tratamiento con interferón  $\alpha$  recombinante, imatinib y otras drogas convencionales.<sup>14,15</sup> Por otra parte, constituye un importante complemento de la evaluación molecular que se hace en los pacientes que hacen estos tratamientos.

El estudio citogenético también ha contribuido notablemente al estudio integral de otras enfermedades hematológicas, entre ellas: la LMA, la LLA, los síndromes mielodisplásicos y la anemia de Fanconi (AF).<sup>25</sup> La introducción en el periodo analizado, del estudio cromosómico con agentes clastogénicos, inductores de rupturas cromosómicas, como el diepoxibutano o la mitomicina C, ha contribuido a optimizar el diagnóstico de la AF.

## ENZIMAS

A finales de la década de los 80 del siglo pasado, se realizó el primer estudio molecular de una variante deficiente de la enzima glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (G6PD): G6PD Santiago de Cuba, hecho relevante no solo porque fue la primera variante de esta enzima a nivel internacional caracterizada por secuenciación del ADN, sino porque se trataba de una mutación "*de novo*", ya que la madre del sujeto estudiado era portadora de la G6PD B (normal).<sup>26</sup>

Posteriormente, se realizó un estudio de 17 pacientes de origen cubano posibles portadores de la variante A<sup>-</sup>. Se observó que 15 (88,2 %), presentaron la variante de origen africano más común con la mutación G6PD A<sup>-376G/202A</sup> y los otros 2 pacientes tenían el genotipo G6PD A<sup>-376G/968C</sup>.<sup>27-29</sup>

Más recientemente se estandarizó en nuestro laboratorio el estudio molecular de 50 pacientes con posibles variantes deficientes o con actividad normal y movilidad electroforética anormal. En 44 (88 %) pacientes se pudo determinar la variante molecular y 6 fueron variantes raras que requieren de otras técnicas moleculares para su identificación.<sup>30</sup>

Se realizó el estudio hematológico, bioquímico y clínico de pacientes y familiares con esferocitosis hereditaria (EH). Las alteraciones bioquímicas más frecuentemente encontradas fueron la deficiencia de espectrina (Sp) y de Sp - ankirina. Estos resultados son similares a los encontrados por otros investigadores.<sup>31</sup>

En 1994, en el IHI se comenzó a realizar la esplenectomía parcial en pacientes con EH. Hace 2 años se efectuó una evaluación a largo plazo de la efectividad de este proceder quirúrgico y los resultados mostraron que la evolución fue satisfactoria excepto en 2 enfermos que presentaron crecimiento del fragmento esplénico.<sup>32</sup>

Actualmente se encuentra en ejecución un proyecto de investigación en el que se realiza una evaluación longitudinal hematológica, bioquímica y clínica en pacientes

adultos con anemia drepanocítica (AD). Los resultados preliminares de este trabajo han sido objeto de presentación y publicación recientes.<sup>33,34</sup>

La estrecha interrelación de todos estos estudios y las perspectivas que se abren ante el avance de la ciencia, ha conducido a la integración de estas 3 áreas de investigación que a partir del año 2010 conforman el actual Departamento de Biología Celular y Molecular.

## AGRADECIMIENTOS

A todas las personas que de una u otra forma han contribuido a alcanzar los resultados logrados, sin cuyo esfuerzo no hubiera sido posible el desarrollo científico alcanzado.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Martínez G, Hernández A, Corral L, Muñiz A, Hernández A. Biología molecular en hemoglobinopatías y hemopatías malignas. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [serie en internet]. 1996;12:81-6. Disponible en: [http://bvs.sld.cu/revistas/hih/vol12\\_2\\_96/hih02296.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/hih/vol12_2_96/hih02296.htm)
2. Muñiz A, Puig A, Cabrera M, Fernández J, Martínez G. Marcadores genéticos en pacientes con anemia drepanocítica de la provincia de Cienfuegos: haplotipos del bloque  $\beta$  y  $\alpha$ -talasemia. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [serie en internet]. 2000;16:142-4. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-0289200000200010&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-0289200000200010&lng=es)
3. Muñiz A. Aplicación de las técnicas de biología molecular en el estudio de la anemia drepanocítica y de la  $\beta$ -talasemia. Tesis para la obtención del Grado Científico de Dr. en Ciencias Médicas. La Habana, 2001.
4. Carbonel N. Estudio molecular de los linfomas. Trabajo de terminación de la Especialidad en Hematología. La Habana, 1989.
5. Duvergel E. Estudio molecular por PCR-heteroduplex en el diagnóstico de los síndromes linfoproliferativos. Trabajo de terminación de la Especialidad en Hematología. La Habana, 2006.
6. Amor AM, Matos R, Martínez G. Diagnóstico de linfomas cutáneos mediante detección de clonalidad por PCR-heterodúplex. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [serie en internet]. 2008;24. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892008000100002&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892008000100002&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
7. Hernández A, Corral L, Muñiz A, Aláez C, Espinosa E, Martínez G, et al. Further evidence on the molecular heterogeneity of chronic myelocytic leukemia. Ann Hematol. 1991;62:17-22.

8. Corral L, Muñiz A, Aláez C, Hernández G, Espinosa E, González A, et al. Reordenamiento de los genes RAR alfa y PML en la leucemia promielocítica. *Sangre* 1995; 40: 71-4.
9. Martínez G, Perdomo Y. Detección del gen híbrido PML-RARa por RT-PCR en la leucemia aguda promielocítica: consideraciones técnicas e importancia clínica. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [serie en internet]. 1998;14: 117-20. Disponible en: [http://bvs.sld.cu/revistas/hih/vol14\\_2\\_98/hih09298.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/hih/vol14_2_98/hih09298.htm)
10. Martínez G, Cayado N, Muñiz A, Espinosa E, Dorticós E, González A, et al. Diagnóstico molecular de la leucemia aguda promielocítica: Resultados preliminares. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [serie en internet]. 2000;16: 125-31. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-0289200000200007&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-0289200000200007&lng=es)
11. Hernández P, Martínez G, Espinosa E, Losada R, González A, Machín S, et al. Tratamiento de la leucemia promielocítica con ácido transretinoico y quimioterapia intensiva. Evolución clínica y molecular. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [serie en internet]. 2002;18: Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892002000200002&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892002000200002&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
12. Milanés MT, Hernández P, Svarch E, Martínez G, Ballester JM. Frecuencia de la leucemia promielocítica en Cuba. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [serie en internet]. 2001;17: Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892001000100007&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892001000100007&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
13. Anta Y. Estudio molecular de la leucemia promielocítica aguda. Trabajo de terminación de la especialidad en Hematología. La Habana, 2002.
14. Pavón Morán V, Gómez Baute R, Hernández Ramírez P, Lam RM, Jaime JC, Macías I, et al. Tratamiento de la leucemia mieloide crónica con mesilato de imatinib (Glivec) en pacientes resistentes o intolerantes al interferón  $\alpha$  recombinante. Resultados de Cuba. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [serie en internet]. 2009;25 (Supl.): Disponible en: [http://bvs.sld.cu/revistas/hih/vol25\\_04\\_09/hih02409.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/hih/vol25_04_09/hih02409.htm)
15. Espinosa E, Espinosa EE, Pavón V, Hernández C, Ávila O, Ramón L, et al. Tratamiento de la leucemia mieloide crónica con mesilato de imatinib en pacientes resistentes o intolerantes al interferón  $\alpha$  recombinante. Resultados preliminares. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [serie en internet]. 2010;26. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892010000100002&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892010000100002&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
16. Levón R, González A, Espinosa E, Hernández P, Martínez G. Estudio molecular del gen MLL en 30 pacientes con leucemias agudas. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [serie en internet]. 2000;16: 38-44. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892000000100004&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892000000100004&lng=es)
17. Levón R, González A, Hernández P, Martínez G. Reordenamiento del gen MLL en pacientes pediátricos con leucemia aguda. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [serie en internet]. 2001;17: 108-14. Disponible en:



[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892001000200004&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892001000200004&lng=es)

18. Cayado N, Muñiz A, González A, Svarch E, Martínez G. Estudio del reordenamiento molecular de los genes TEL/AML1 en la leucemia linfocítica aguda. Resultados preliminares. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [serie en internet]. 2000; 16: 206-10. Disponible en:

[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892000000300006&lng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892000000300006&lng=es)

19. Johnson WH. Molecular diagnosis in childhood acute leukaemia and detection of minimal residual disease. Trabajo de curso. La Habana-Groningen; 2001.

20. Cayado N, Hernández C, Ramón LG, Hernández P, Martínez G. Posible quimera M3:M5 en un paciente con leucemia aguda promielocítica: diferente respuesta clonal al tratamiento con ATRA y quimioterapia. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [serie en internet]. 2004; 20: Disponible en:

[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892004000200008&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892004000200008&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

21. Amor-Vigil AM, González-Medina Y, Menéndez-Veitía A, Robaina-Herrera TM, Pérez-Román G, Núñez-Quintana A, et al. Estudio de la mutación tipo a del gen nucleofosmina-1 en la leucemia mieloide aguda (LMA). Resultados preliminares. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [serie en internet]. 2009; 25(supl). Disponible en: [http://bvs.sld.cu/revistas/hih/vol25\\_04\\_09/hih07409.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/hih/vol25_04_09/hih07409.htm)

22. Amor AM, Martínez G. Importancia del estudio del quimerismo en el trasplante alogénico de médula ósea. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [serie en internet]. 2003; 19. Disponible en:

[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892003000200007&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892003000200007&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

23. Amor AM, Jaime JC, Pavón V, Figueredo YE, Luna C, Wilford M, et al. Quimerismo molecular en el trasplante alogénico de células hematopoyéticas. Resultados preliminares. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [serie en internet]. 2005; 21: Disponible en:

[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892005000300007&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892005000300007&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

24. Izquierdo LM. Estudio del quimerismo molecular en el trasplante alogénico de células hematopoyéticas. Trabajo de terminación de la especialidad en Hematología. La Habana, 2007.

25. Lavaut K, Jaime JC, Núñez A, Pavón V, Hernández P, Machín S. Uso de la prueba de rupturas cromosómicas en el estudio de la anemia de Fanconi. Resultados preliminares. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [serie en internet]. 2008; 24: Disponible en:

[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892008000100007&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892008000100007&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

26. Vulliamy TJ, D'Urso M, Battistuzzi G, Estrada M, Foulkes NS, Martini G, et al. Diverse point mutations in the human glucose-6-phosphate dehydrogenase gene cause enzyme deficiency and mild or severe hemolytic anemia. Proc Natl Acad Sci USA. 1988; 85: 5171-5.



27. Rovira A, Vives-Corróns JLI, Estrada M, Gutiérrez A, Pujades MA, Colomer D, et al. Identificación de variantes moleculares de la glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (G6PD) mediante la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). *Med Clin*. 1994;102:281-4.
28. Vives Corróns JLI, Rovira A, Pujades MA, Estrada M, Vulliamy TJ. Diverse popint mutations of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) gene in Spanish and Cuban patients with hemolytic anaemia. *Rev Invest Clin*. 1994;46(suppl):234a.
29. Estrada M, Gutiérrez A, Palacios B, Pérez G, Rovira A, Vives Corróns JLI. Estudio bioquímico y molecular de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa en Cuba. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [serie en internet]. 1995;11:115-20. Disponible en: [http://bvs.sld.cu/revistas/hih/vol11\\_2\\_95/hih02295.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/hih/vol11_2_95/hih02295.htm)
30. Estrada M, Herrera M, Mayo C, Pérez G. Caracterización molecular de variantes de glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (G6PD) en la población cubana. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [serie en internet]. 2008;24: Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892008000200006&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892008000200006&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
31. Estrada M, Herrera M, Mayo C, Robaina T, Pavón V, Jaime JC, et al. Estudio hematológico, bioquímico y clínico de pacientes y familiares con esferocitosis hereditaria. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [serie en internet]. 2009;25: Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892009000300004&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892009000300004&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
32. Garrote H, Pavón V, Jaime JC, Cisneros H, López LG, Herrera M, et al. Evaluación a largo plazo de la esplenectomía parcial en pacientes con esferocitosis hereditaria. *Rev Cub Hematol Inmunol Hemoter* [serie en internet]. 2010;26. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892010000100004&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892010000100004&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
33. Estrada M, García MB, Cisneros H, Díaz LM, Bravo M, Abreu J, et al. Análisis de algunas variables hematológicas, bioquímicas y clínicas en la anemia drepanocítica (AD). Resultados preliminares. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [serie en internet]. 2010;26(2). Disponible en: [http://bvs.sld.cu/revistas/hih/vol\\_26\\_2\\_10/hih07210.htm](http://bvs.sld.cu/revistas/hih/vol_26_2_10/hih07210.htm)
34. Espinosa-Martínez E, García MB, Espinosa-Estrada E, Álvarez R, Hernández P, Ávila O, et al. Hipertensión pulmonar en el adulto con anemia drepanocítica (AD). Resultados preliminares. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [serie en internet]. 2010; 26 (3). Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892010000300004&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892010000300004&lng=es&nrm=iso&tlng=es)

Recibido: 27 de septiembre del 2010.  
Aprobado: 12 de octubre del 2010.

DraC. *Ana María Amor-Vigil*. Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado 8070, CP 10800. Ciudad de La Habana, Cuba. Tel (537) 643 8695, 8268, Fax (537) 644 2334. correo electrónico: [ihidir@hemato.sld.cu](mailto:ihidir@hemato.sld.cu); [ihi@infomed.sld.cu](mailto:ihi@infomed.sld.cu)  
Website: <http://www.sld.cu/sitios/ihl/index.php>