RAÍCES, DESARROLLO Y FUTURO DE LA HEMATOLOGÍA

-25 de Septiembre, 2008 –

-La Serena, Chile-

.....

XVI Congreso Chileno Hematología

VI Congreso Medicina Transfusional

Sociedad Chilena de Hematología

Prof. V. Vicente

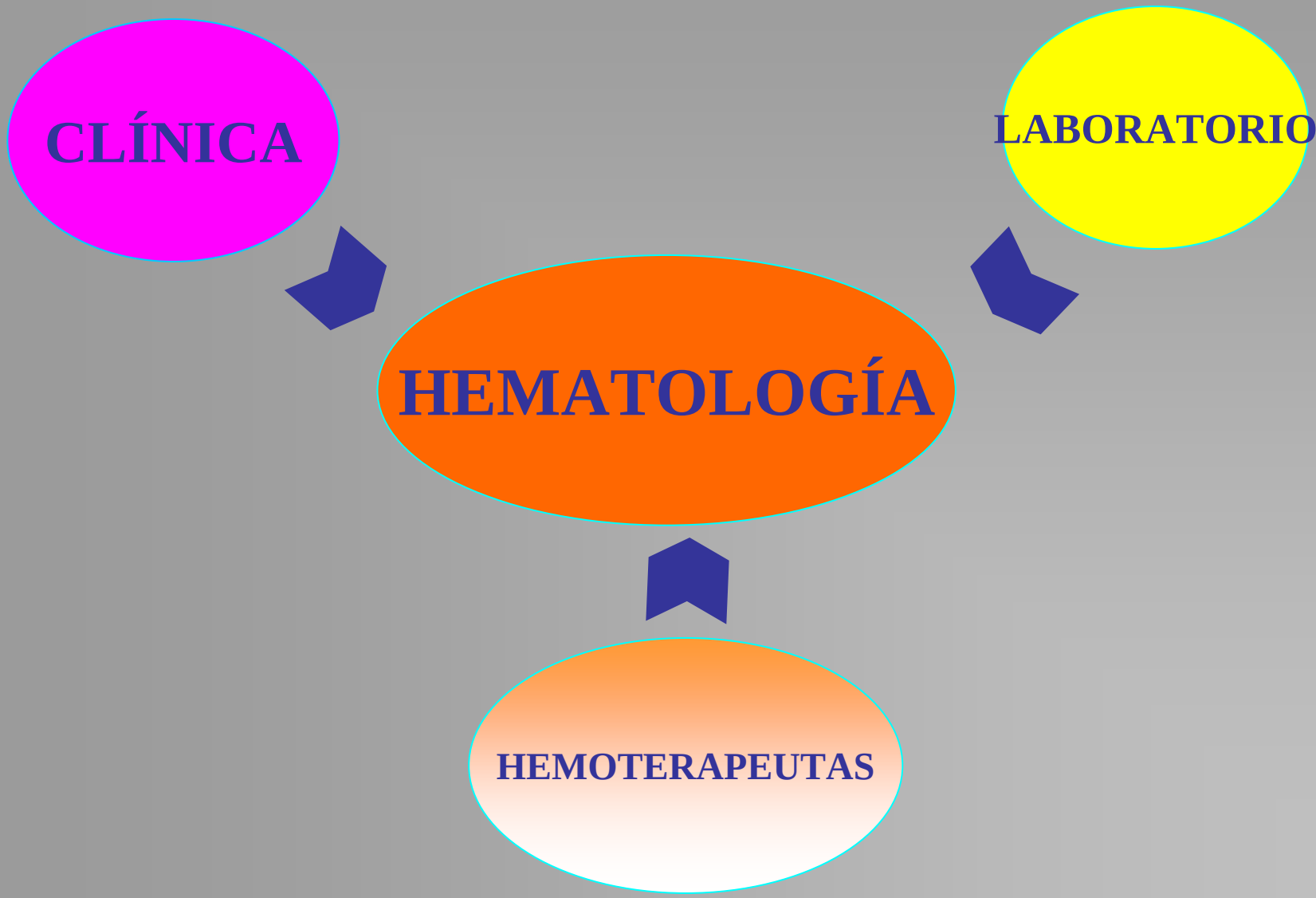
Hospital Universitario Morales Meseguer

Murcia (España)

BLOOD, PURE AND ELOQUENT

Maxwell M. Wintrobe

ORIGEN DE LA HEMATOLOGÍA



GUERRA CIVIL ESPAÑOLA (1936-1939)

NECESIDADES TRANSFUSIONALES

Frederic Durán Jordá

1905-1957

Carlos Elósegui Sarasola

1903-1981

Contador manual de células y libro morfología

ATLAS OF

BLOOD CYTOLOGY

CYTOMORPHOLOGY, CYTOCHEMISTRY AND CYTOGENETICS

by

G. FORTEZA BOVER, M. D.

with the collaboration of

R. BÁGUENA CANDELA, M. D.

translated by

F. G. BOLTON, J. VIÑAS and J. TRIGINER

preface by

WILLIAM DAMESHEK, M. D.

336 PHOTOMICROGRAPHS IN COLOR

GRUNE & STRATTON, NEW YORK and LONDON, 1964

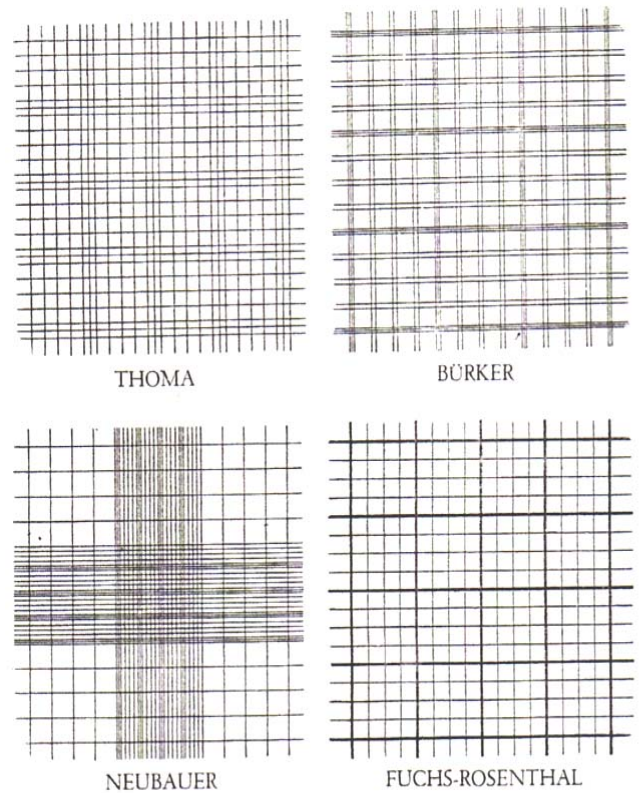


Fig. 31. — Los principales tipos de cuadrícula para cámaras cuentaglóbulos. La cámara de Thoma está dibujada a mayor aumento (tres diámetros más) que las otras, y corresponde exactamente al retículo central de la cámara de Neubauer. En la cámara de Fuchs-Rosenthal las rayas gruesas corresponden en realidad a una triple raya pequeña.

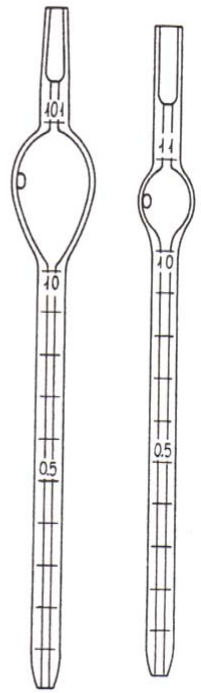


Fig. 29. — Pipetas cuentaglóbulos de Thoma, para hematíes (dilución 1 / 100) y para leucocitos (dilución 1/10).

HEMATOLOGÍA

-Rasgos que la definen -

***ESPECIALIDAD DE MEDICINA INTERNA**

***SUSTENTADA EN EL LABORATORIO**

(Confluencia de la Biología y la Clínica)

Visión “*bilingüe*” de la Medicina

Mentalidad clínica anclada en sólida formación biológica

HEMATOLOGÍA
- Cuerpo Doctrinal -

Servicio Central -Laboratorio- ⇄ **Actividad Clínica -Medicina Interna-**

* **Hematimetría.**
* **Hemostasia.**
* **Banco de Sangre.**

{ **Hasta 1980**
Tecnología manual y rudimentaria

A partir de 1980
Desarrollo Tecnológico
Automatización & Estandarización

Sociedades Científicas de Hematología

* Societé Française d´Hematologie (1931)

* International Society of Hematology (1946)

* American Society of Hematology (1957)

* Asociación Española de Hematología y Hemoterapia (1959)

AMERICAN SOCIETY OF HEMATOLOGY

50

Conquering Blood Diseases –
From Research to Patient Care

December 6-9, 2008
Moscone Convention Center
San Francisco, CA

AEHH

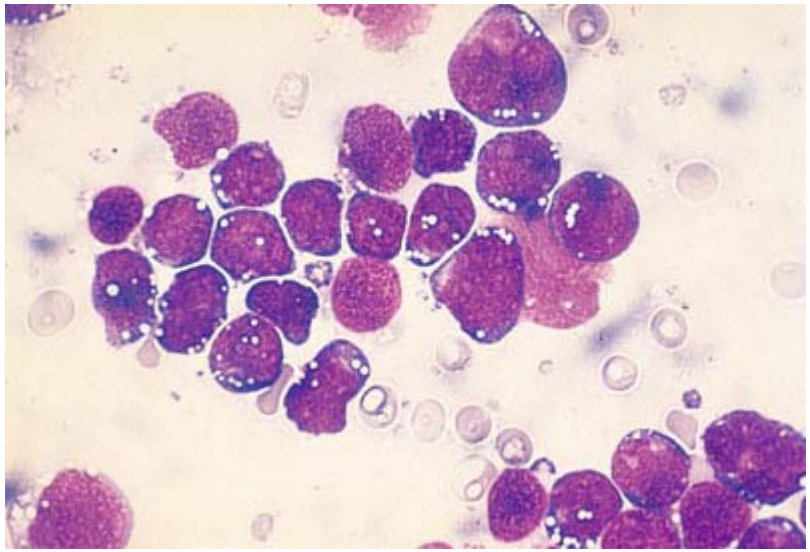
50ª Reunión Nacional AEHH
Murcia 2008
XCIV Congreso Nacional SETH
23-25 de octubre

SETH

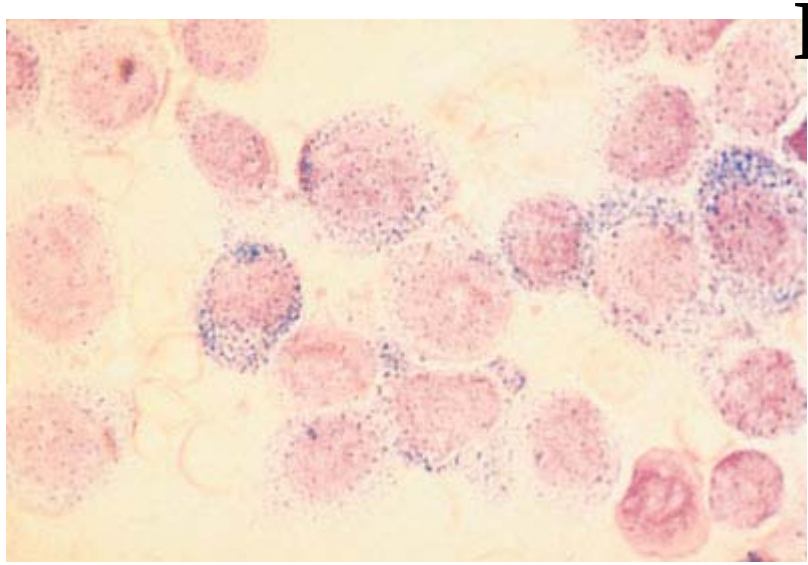
HEMATOLOGÍA
-Razones de su crecimiento -

A y B: Frotis de sangre periférica

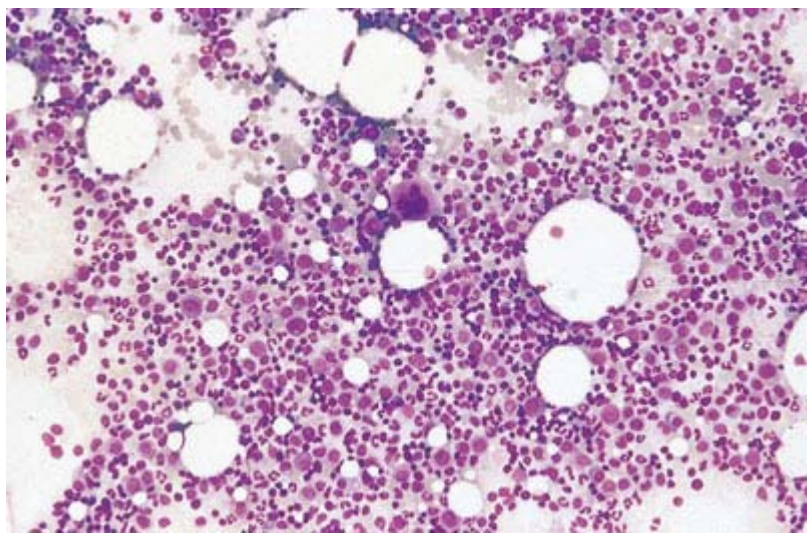
A



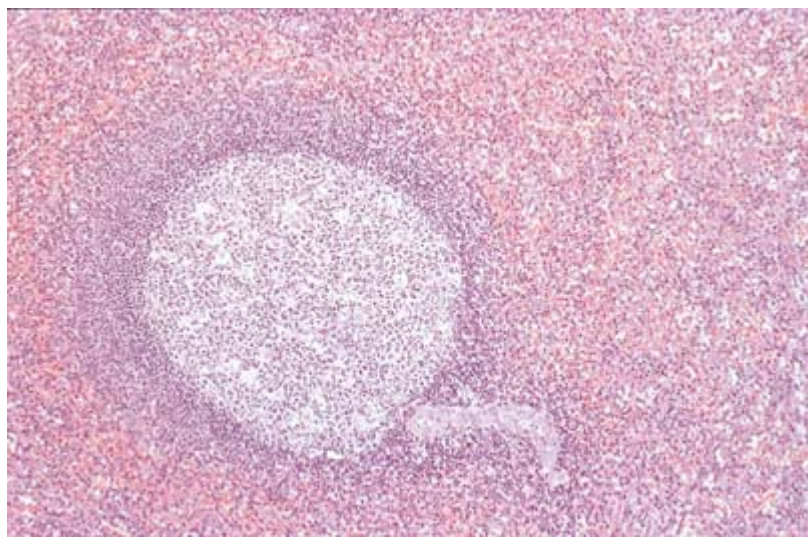
B



C

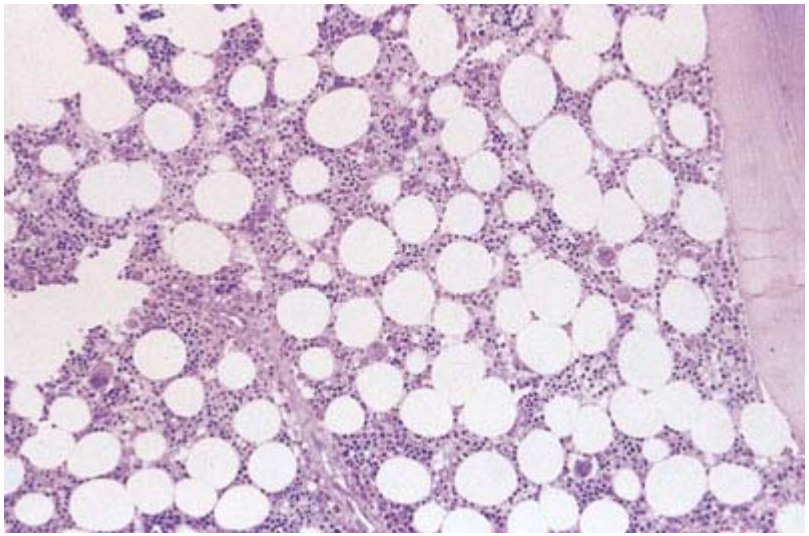


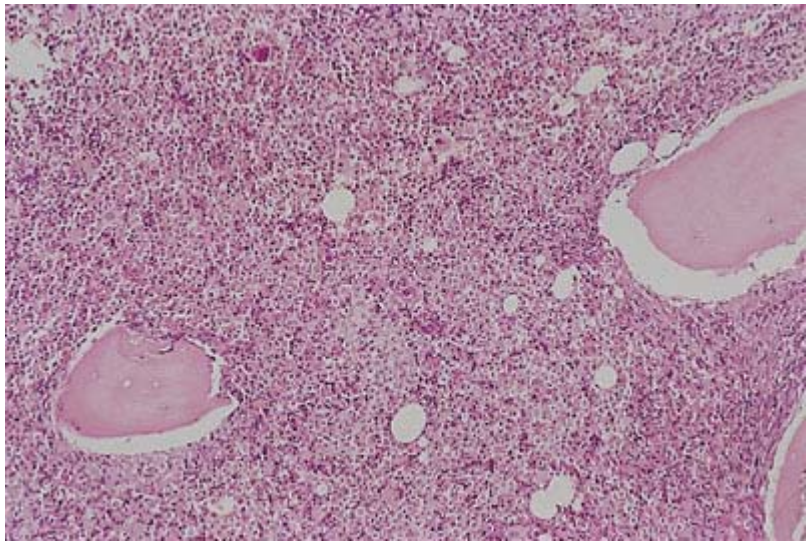
D

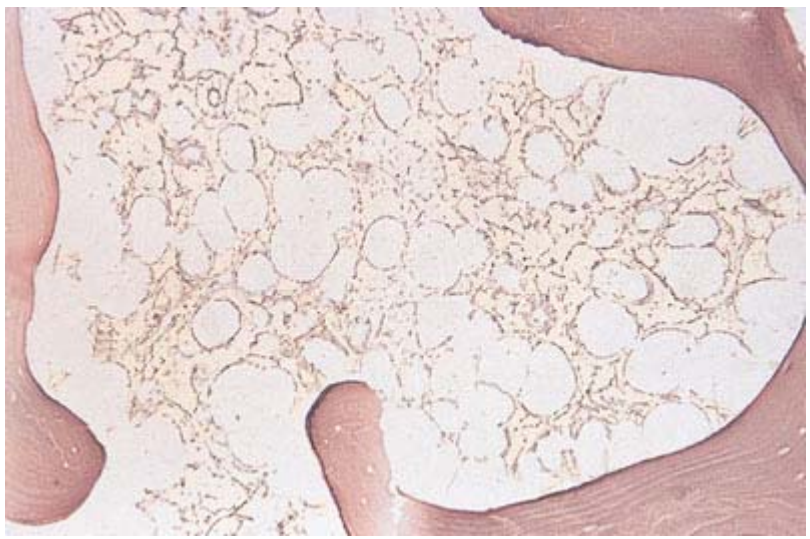


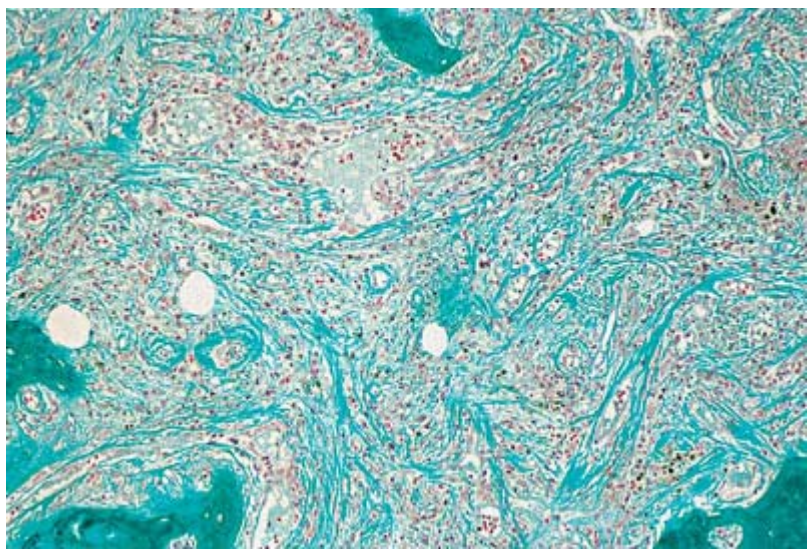
C: Aspirado de M.O. D: Biopsia ganglionar

BIOPSIA ÓSEA









Hitos en el diagnóstico de las Hemopatías

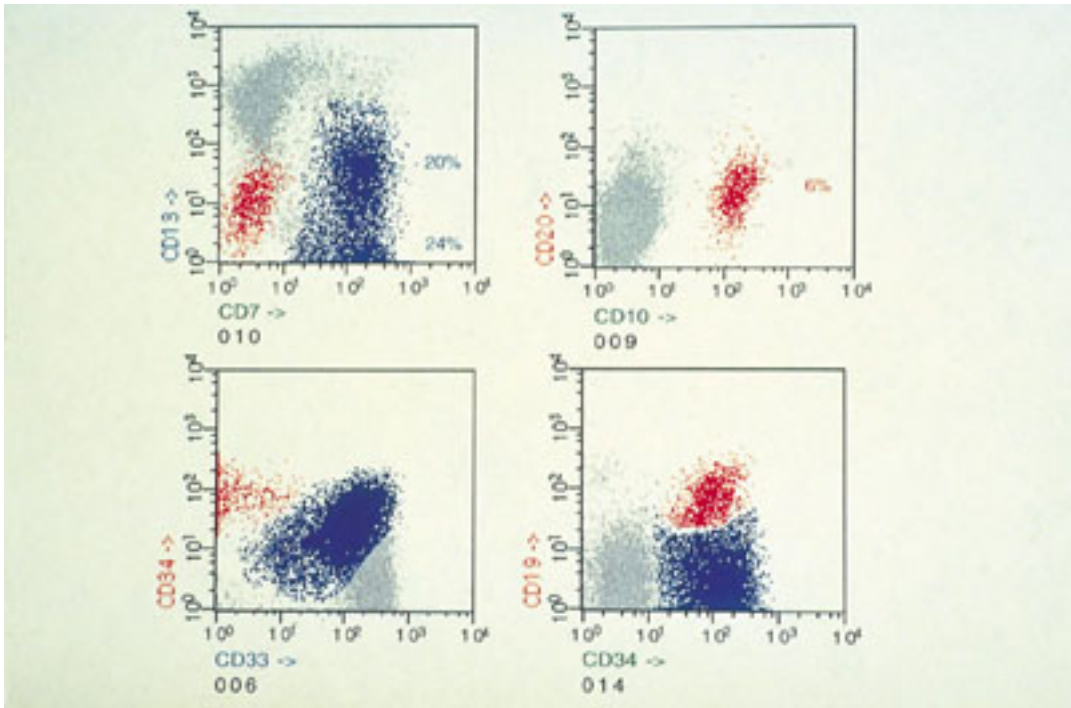
1960 * Morfología convencional/citoquímica

1980 * Rasgos citológicos/histológicos
* Inmunofenotipo celular/ Inmunohistoquímica

1990 * Citogenética
* Marcadores moleculares (Genotipo)

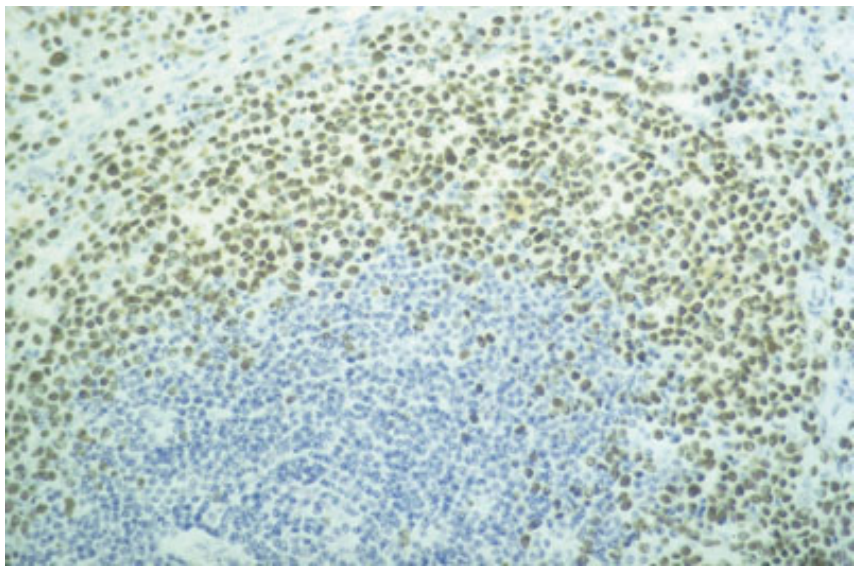
2000 * Expresión Génica
* Análisis Proteómico

Inmunofenotipo de leucemia aguda - Fenotipo bilineal -

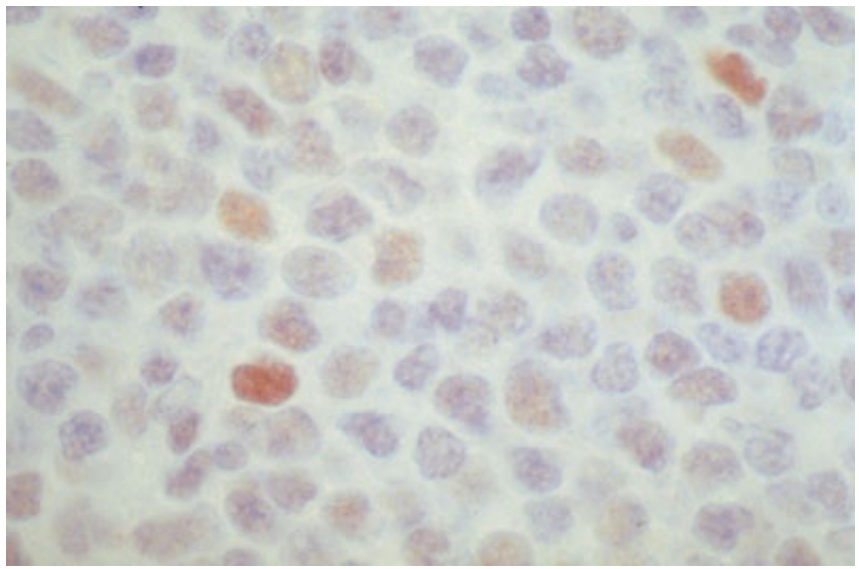


LAL B/T con marcadores mieloides

Linfoma del Manto
- Inmunocitoquímica -



Inmunocitoquímica: P-53



Inmunocitoquímica: Ciclina D-1

Hitos en el diagnóstico de las Hemopatías

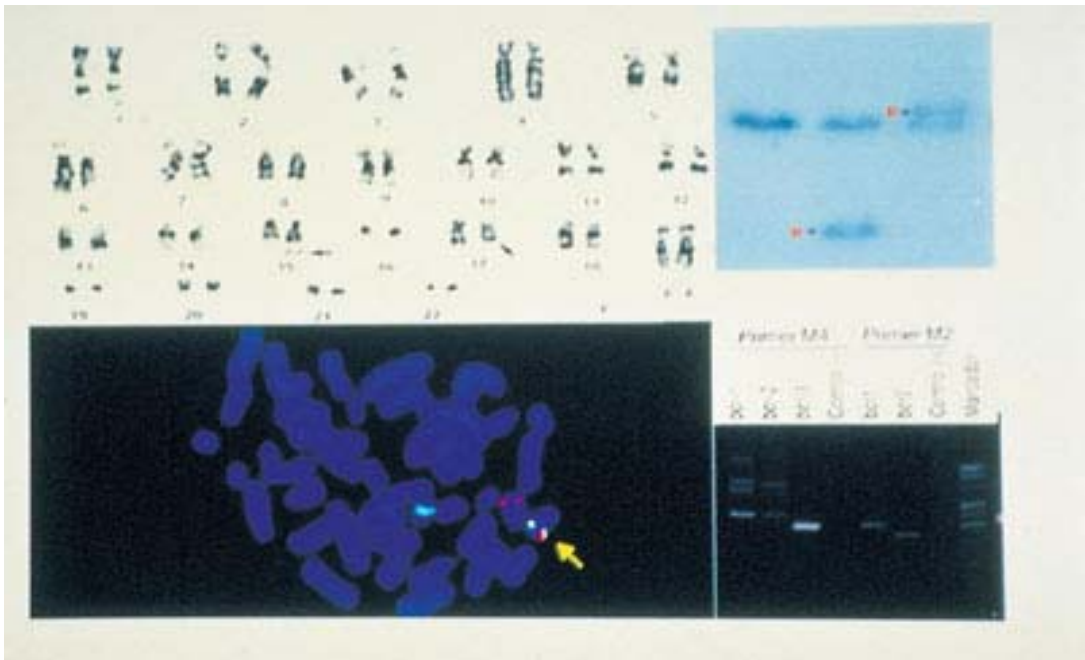
1960 * Morfología convencional/citoquímica

1980 * Rasgos citológicos/histológicos
* Inmunofenotipo celular/ Inmunohistoquímica

1990 * Citogenética
* Marcadores moleculares (Genotipo)

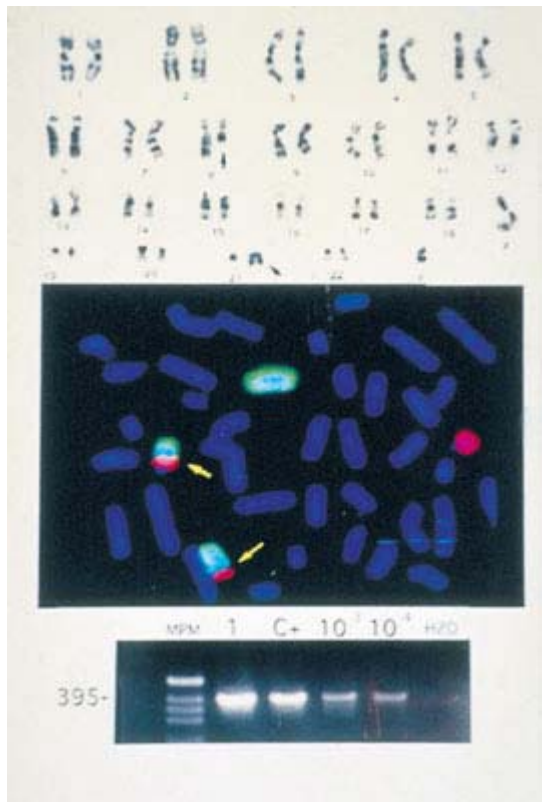
2000 * Expresión Génica
* Análisis Proteómico

Tipificación del Genotipo
- Citogenética, Hibridación ¨in situ¨, reordenamiento en leucemia aguda-



Leucemia aguda M-3. Traslocación 15;17. FISH, Southern y RT-PCR.

LAM-2. Traslocación 8;21. FISH y RT-PCR.



Clasificación de Leucemias y Linfomas - Evolución-

Año	*Leucemias*	*Linfomas*
1960	•Morfologíca/Citoquímica (LAL, LANL)	•Rappaport (Nodular/Difuso; BD/PD/H)
1980	•FAB (M_0-M_7; L_1-L_3)	•Lukes y Collins •Kiel •¨WorKing Formulation¨
1995	•Inmunológica (Grupo Europeo)	•REAL (Grupo Internacional)
2001	•O.M.S. (Morfología/Fenotipo/Genotipo)	•O.M.S (Histología/Fenotipo/Genotipo)

Hitos en el diagnóstico de las Hemopatías

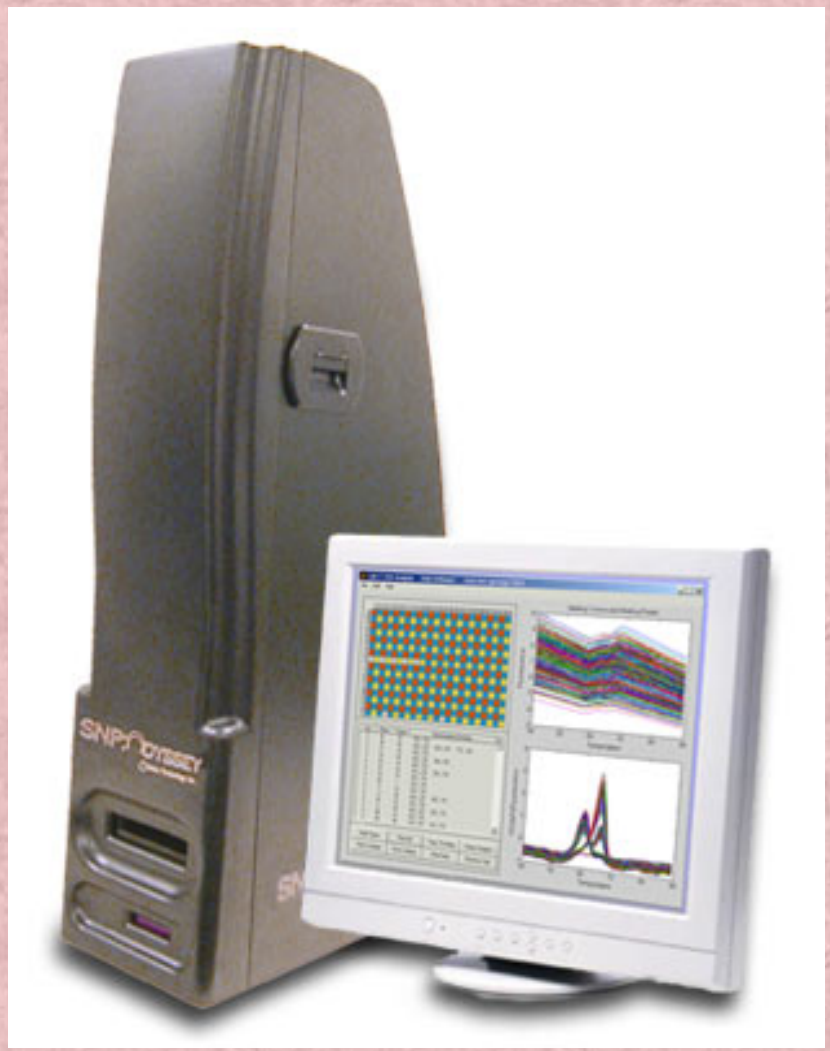
1960 * Morfología convencional/citoquímica

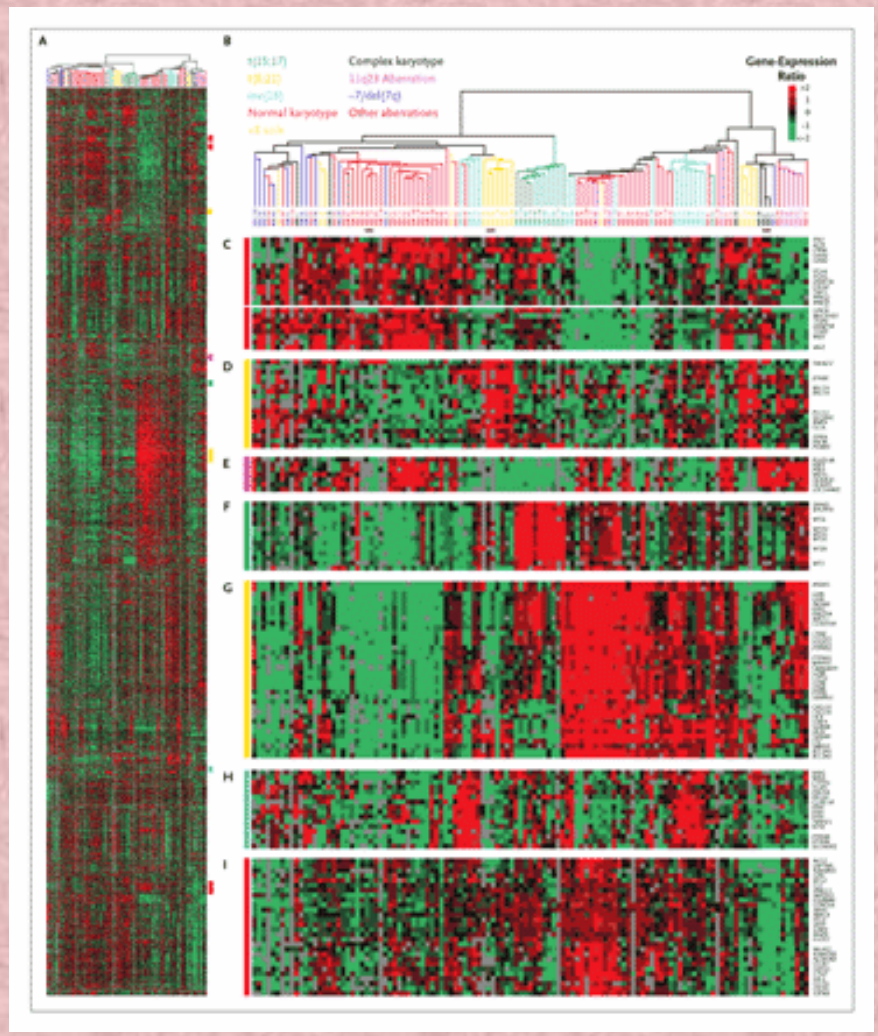
1980 * Rasgos citológicos/histológicos
* Inmunofenotipo celular/ Inmunohistoquímica

1990 * Citogenética
* Marcadores moleculares (Genotipo)

2000 * Expresión Génica
* Análisis Proteómico

Estudios de Genómica
- Microarrays -





Proteómica

Muestra (s)

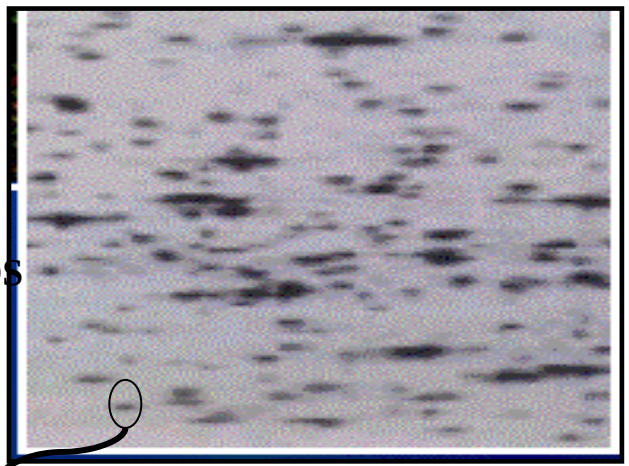
Preparación

- Fraccionamiento
- Lísis y resuspensión
- Tratamiento (reducción proteínas sobre-representadas)

2-DE

IEF

SDS



LC

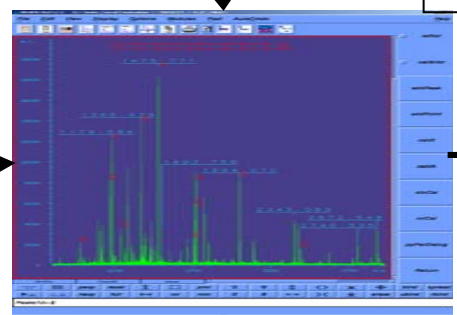
Chips

Intercambio iónico fase reversa

Afinidad Anticuerpos Funcionales

MS

MS

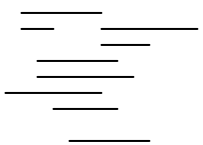


Base datos & MASCOT

Identificación y escisión de spots

Digestión proteolítica “in gel”

MS



Mezcla de péptidos

MS/MS en tandem

Secuencia

Proteína

Herramientas de la Medicina “ómica”

Aproximación “ómica”	Plataforma Tecnológica
Genómica (qué puede ocurrir)	Estudio de ~$10x10^6$ SNPs
Trascriptómica (qué podría estar ocurriendo)	Expresión de ~$25x10^3$ genes
Proteómica (qué es lo que ocurre)	Producto de 10^5 proteínas
Metabolómica	Perfiles metabólicos 10^3-10^4

(el final del camino biológico que comienza con el ADN)

Hitos en el diagnóstico de las anomalías de hemostasia y trombosis

1960 * Diagnóstico de coagulopatías congénitas. Anomalías moleculares. Agregación plaquetaria

1980 *Semiautomatización. Concepto de trombofilia. Caracterización molecular.

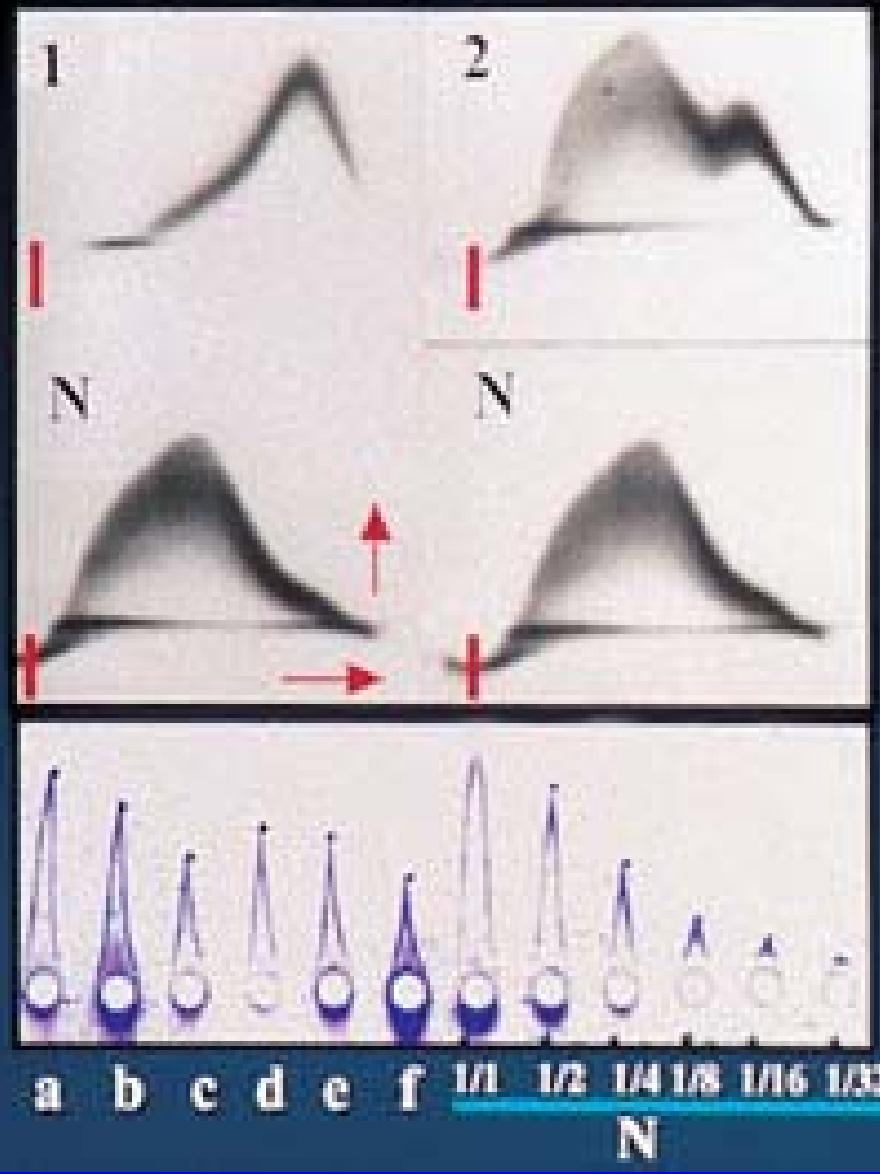
1990 * Automatización. Polimorfismos genéticos y riesgo trombótico.Trombosis como enfermedad multigénica.

2000 * Expresión Génica
* Análisis Proteómico

Hemofilia

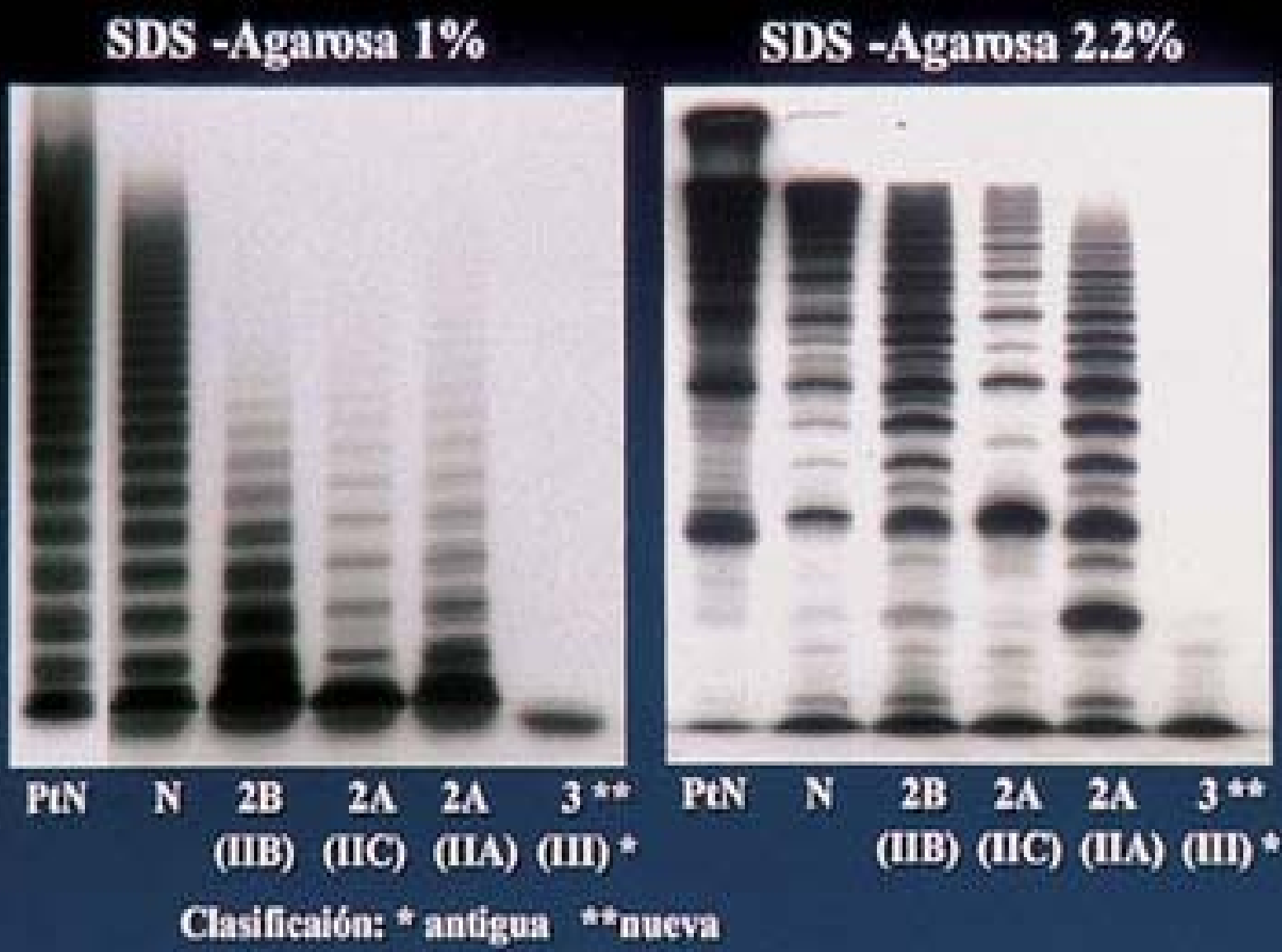
Inmunoelectroforesis bidimensional (cruzada):

- N: Plasma normal
- 1 y 2: EvW 2A (IIC)
  - 1 : Homozigoto
  - 2 : Heterozigoto

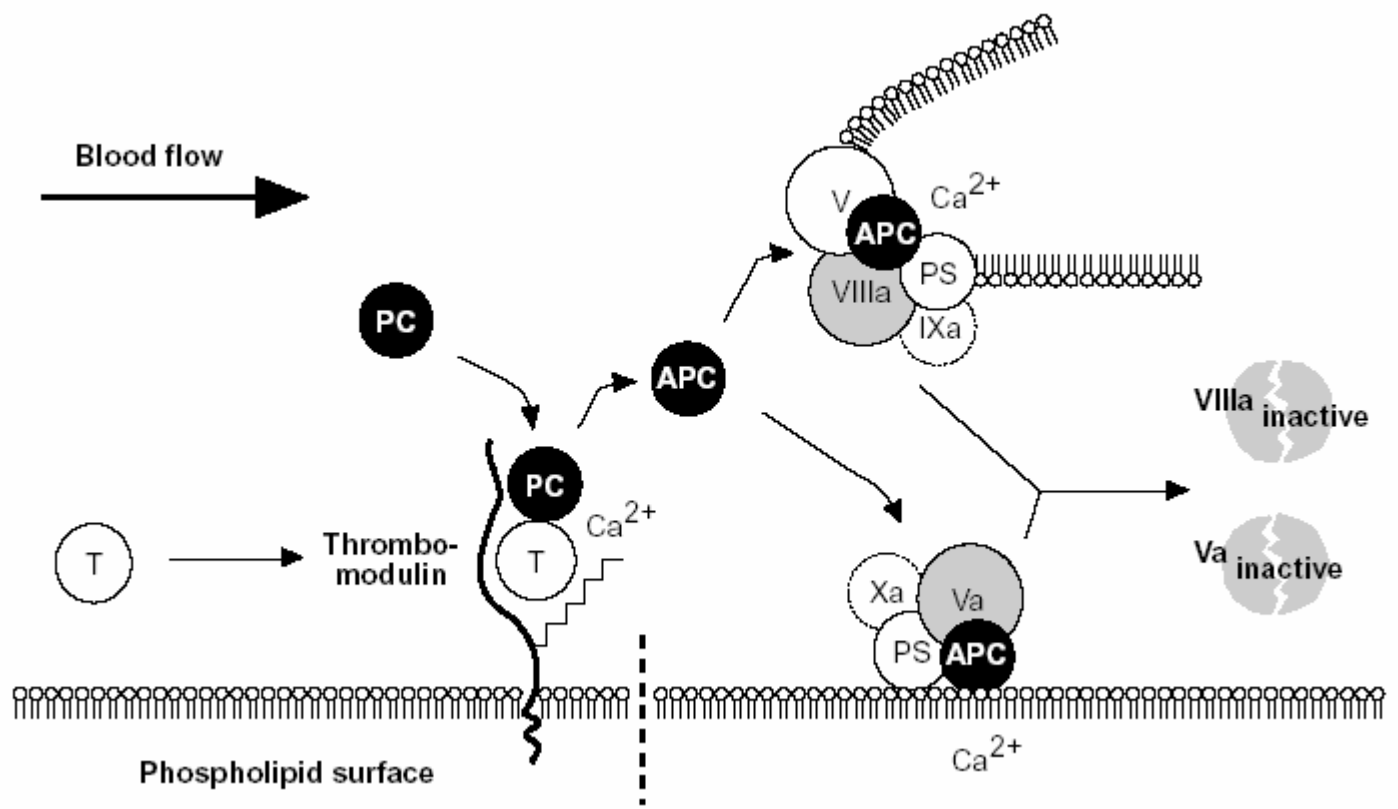


Electroinmunodifusión cuantitativa:

- a - f: Pacientes con EvW
- N: Diluciones plasma normal

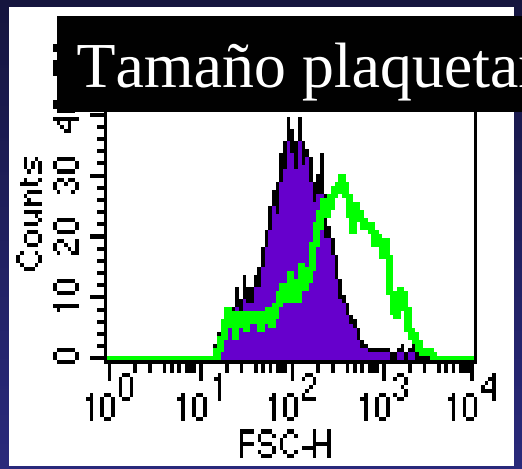

SDS -Agarosa 1%
SDS -Agarosa 2.2%
PtN
N
2B (IIB)
2A (IIC)
2A (IIA)
3 ** (III) *
PtN
N
2B (IIB)
2A (IIC)
2A (IIA)
3 ** (III) *
Clasificaión: * antigua **nueva

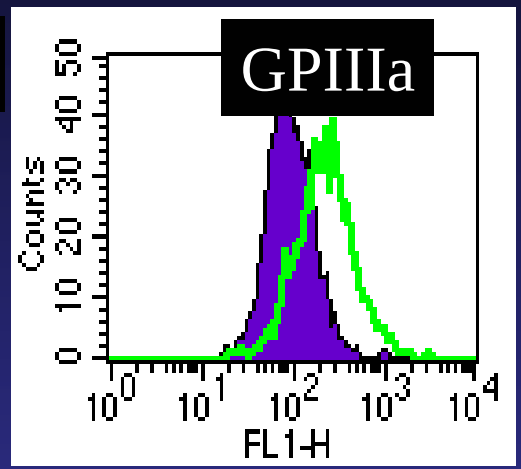
Sistema de la Proteína C

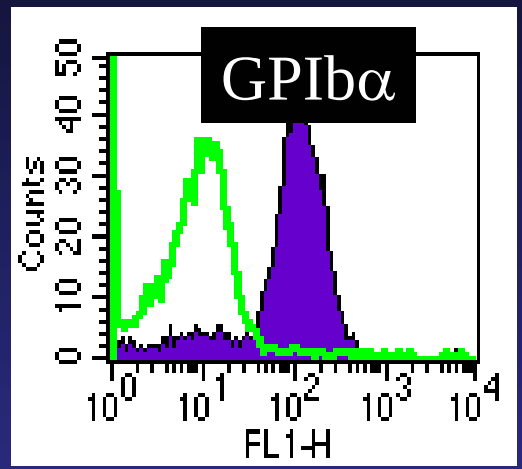


Identificación de trombopatías por Citometría de Flujo

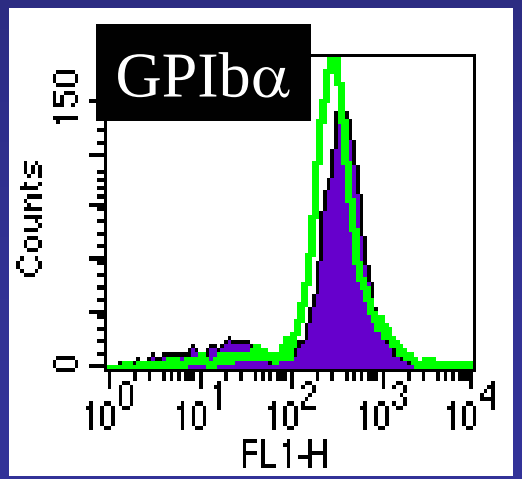
SBS

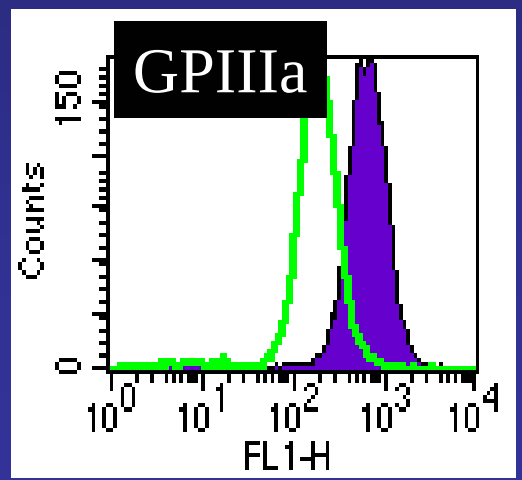


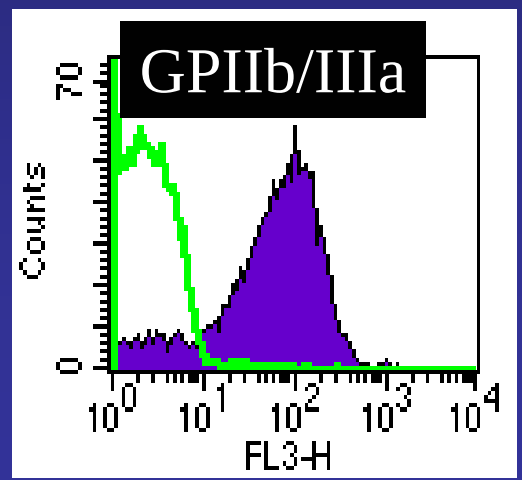




TG





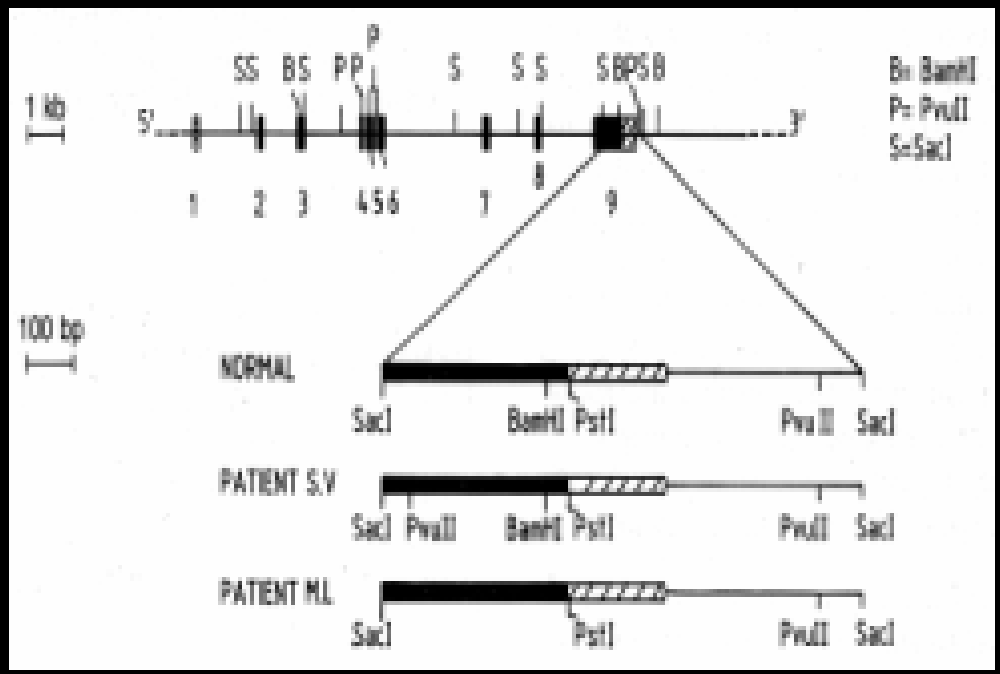


TROMBOFILIA HEREDITARIA

1*.- Estructura del gen de la PC.

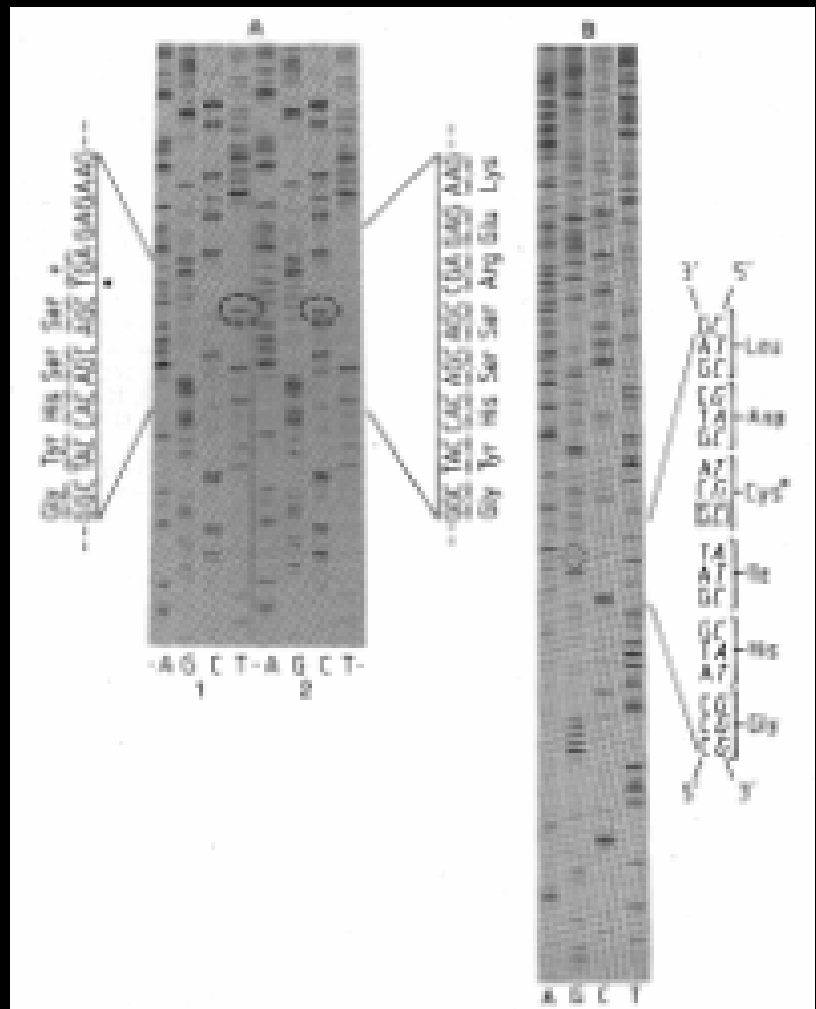
2*.- Secuencia del exón 9 del gen de la PC

1*



Romeo et al, Proc Natl Acad Sci USA, 1987

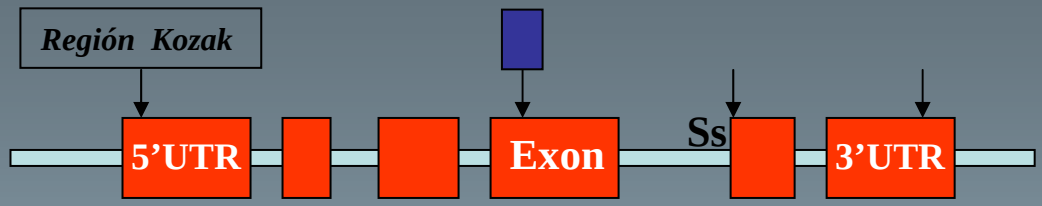
2*



Polimorfismos

Localización

- Regiones codificantes
- Regiones reguladoras



Tipo

- SNPs
- Repeticiones (VNTR)
- Inserciones
- Deleciones

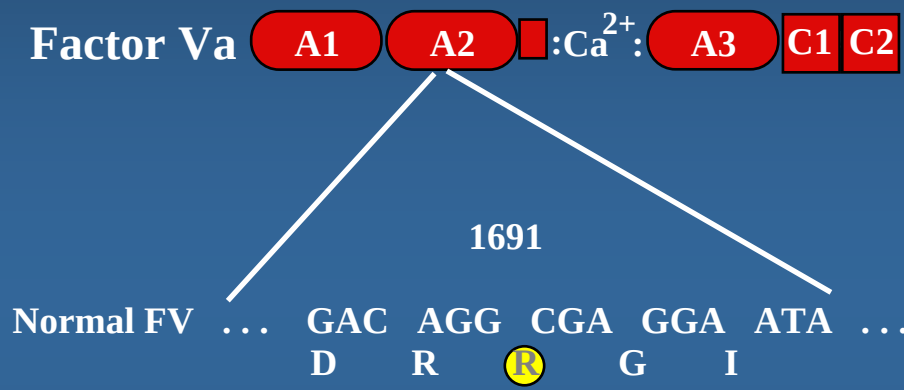
GTG AAG TCA TGC Normal Sequence
GTG ATG TCA TGC Mutant Sequence

Consecuencias

- Silente
- Modifica secuencia
  - * Altera la función
- Modifica la expresión

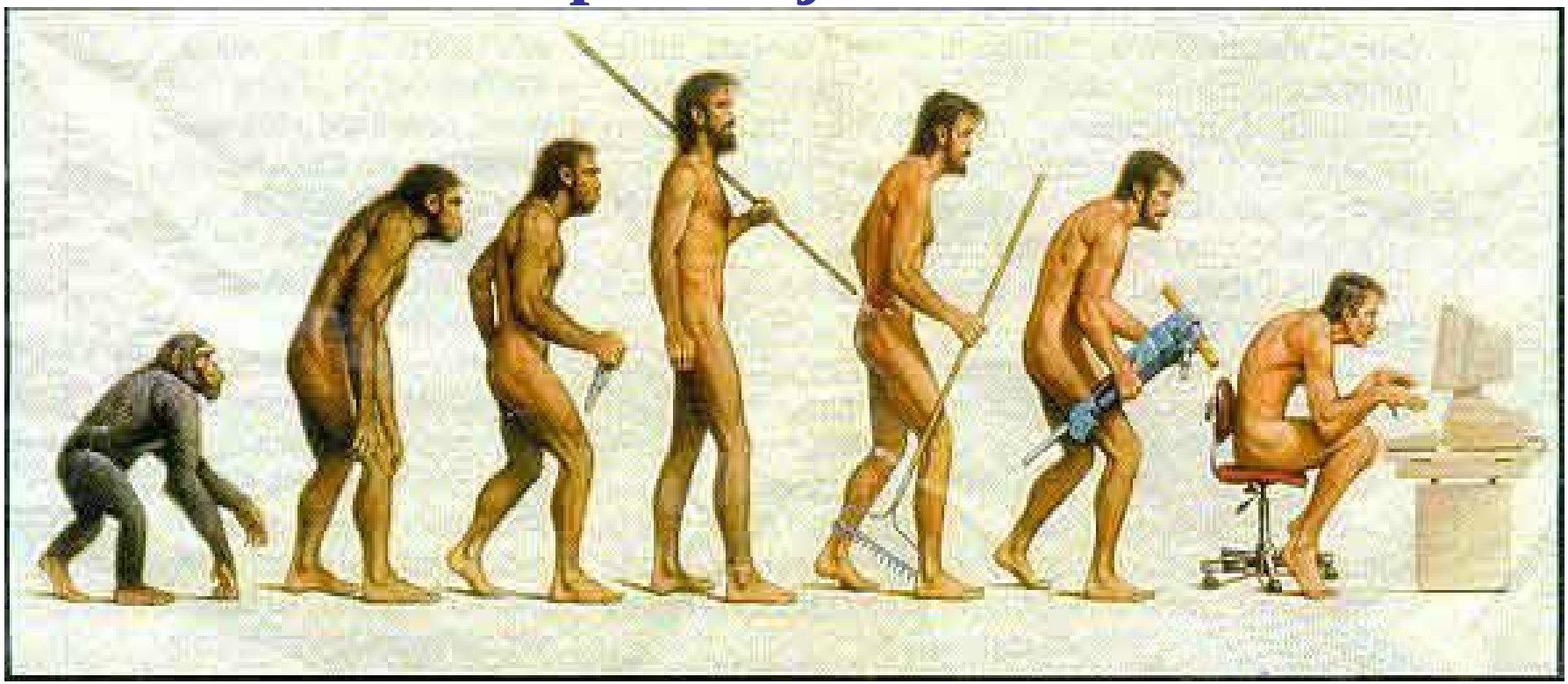
GTG	AAG	TCA	TGC	VAL	LYS	SER	CYS
GTG	AAA	TCA	TGC	VAL	LYS	SER	CYS
GTG	AAG	TCA	TGC	VAL	LYS	SER	CYS
GTG	ATG	TCA	TGC	VAL	MET	SER	CYS

Factor V Leiden



Polimorfismos protrombóticos

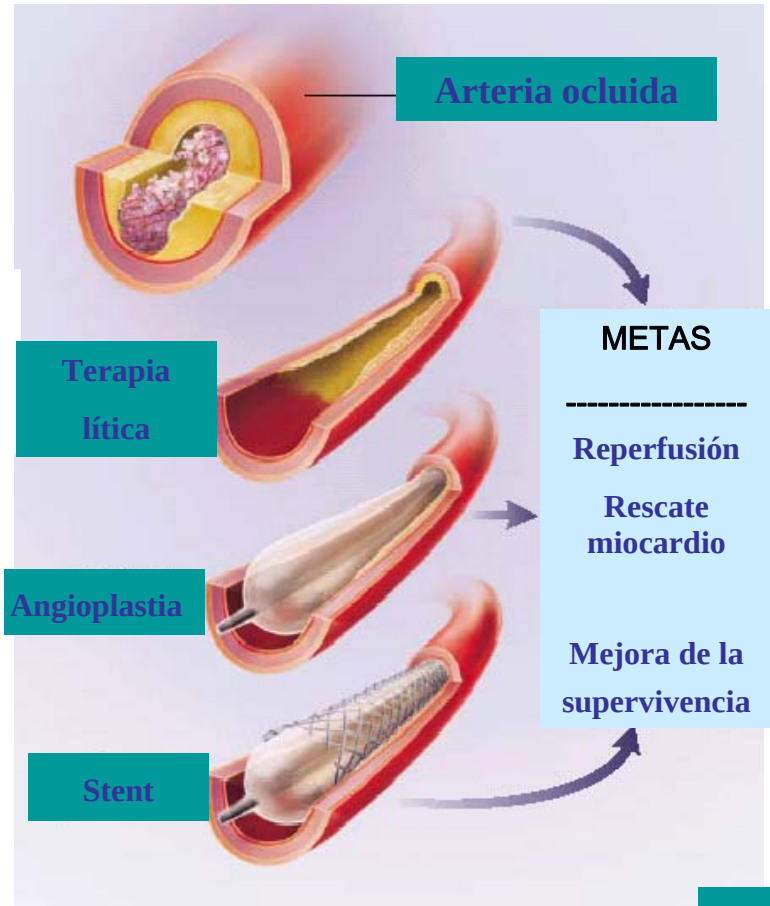
- La paradoja evolutiva -

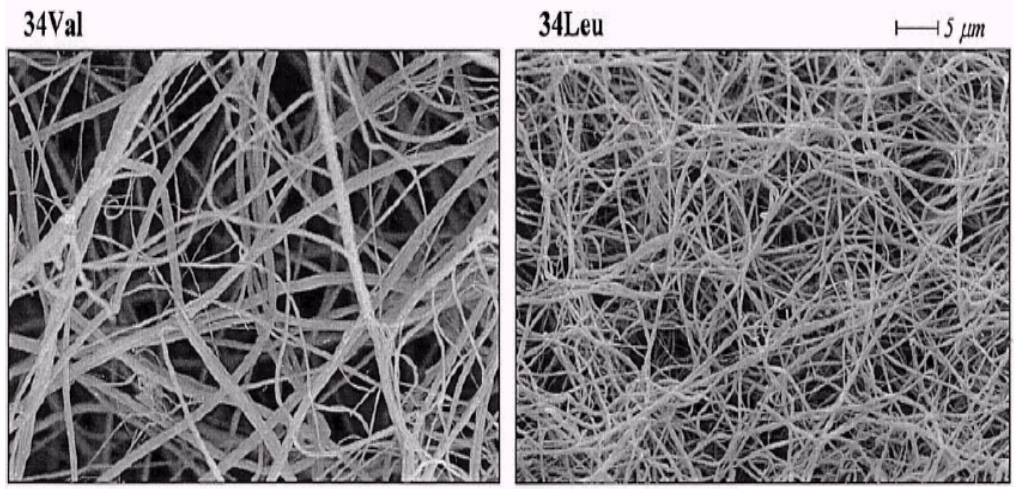


Nutrición	
Sociedad (bélica y rural)	**(estrés y ciudad)**
Hábitos (ejercicio físico)	**(sedentaria)**
Expectativas de vida (corta <50 años)	**(> 80 años)**
HEMORRAGIA	**TROMBOSIS**

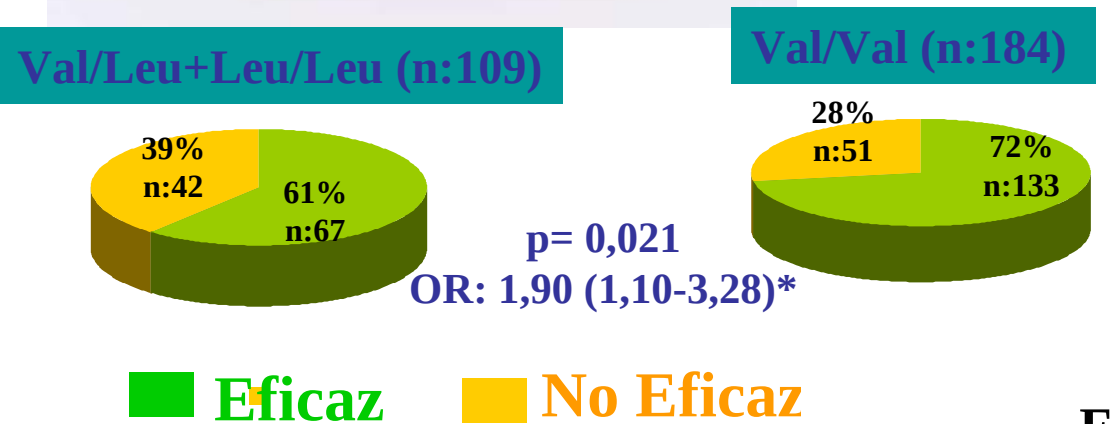
Eficacia Terapia Trombolítica

Polimorfismo FXIII Val34Leu





La trombolisis en pacientes con genotipo Leu34 es menos eficaz



F. Marín et al, JACC 45;25-29, 2005.

Índice Pronóstico Internacional en LCG (IPI)

Variables
• Edad (≤ 60 vs. >60)
• Estadio (I-II vs. III-IV)
• LDH (N vs. > N)
• ECOG (0-1 vs. 2-4)
• Áreas extraganglionares (≤1 vs. >1)

Pronóstico	Nº. Factor.	% Pts.	SG 5a. (%)
Bajo	0 - 1	35	73
Intermedio-B	2	27	51
Intermedio-A	3	22	43
Alto	4-5	16	26

Índice Pronóstico Internacional en LCG (IPI) Ajustado a la edad

Variables
• Estadio (I-II vs. III-IV)
• LDH (N vs. > N)
• ECOG (0-1 vs. 2-4)

Grupo riesgo	RC (%)	SLR(5a) (%)	SG(5a) (%)
B	92	86	83
IB	78	66	69
IA	57	53	46
A	46	58	32

FACTORES PRONOSTICOS

CLÍNICA → **Detección de Enfermedad oculta** → **Marcadores de Enfermedad**

*** Manifestaciones Clínicas**
(Infiltración SNC, etc)
*** Estadios clínicos**
(Clasificación Ann Arbor, etc)

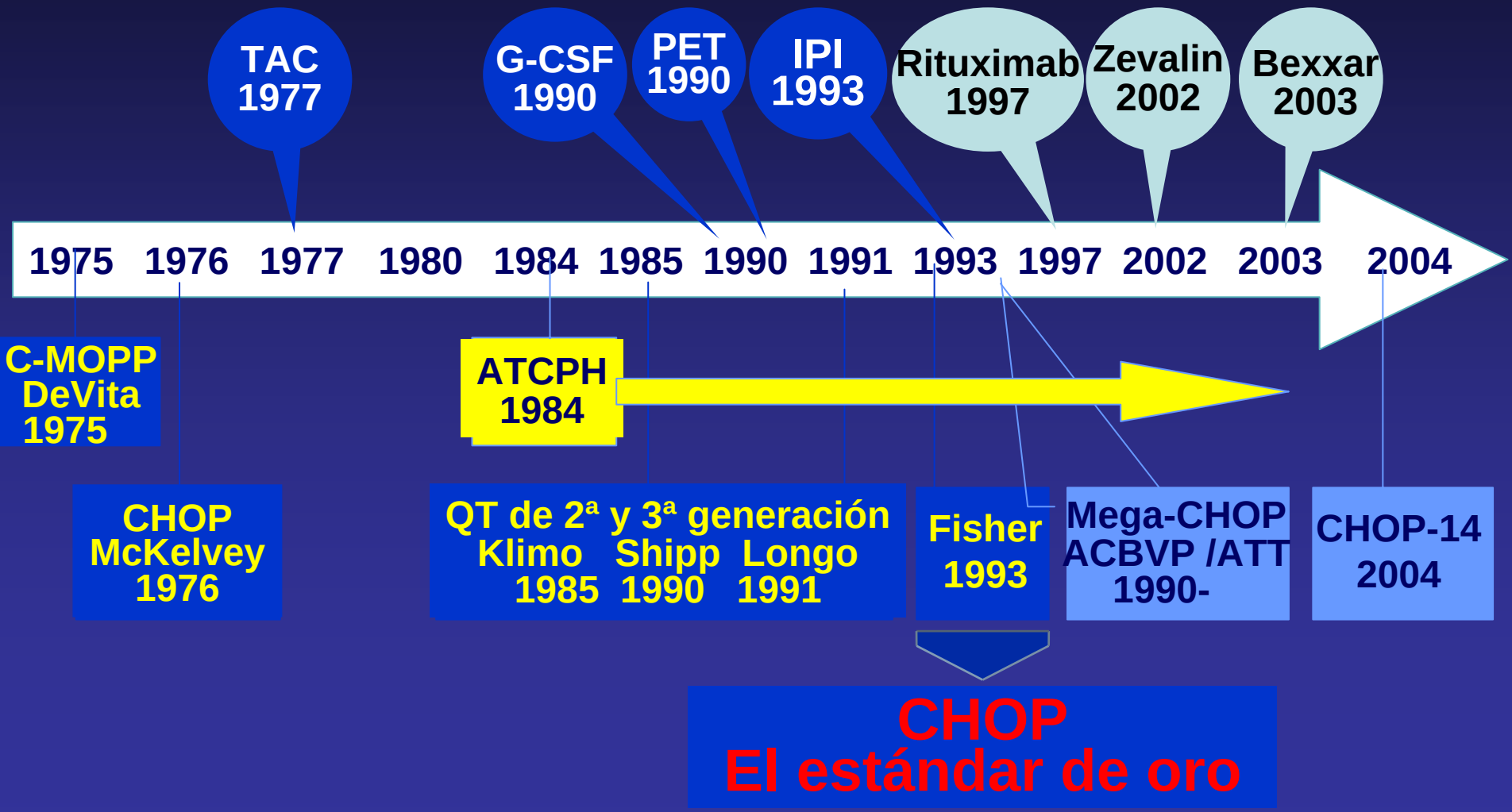
*** Radiología**
*** Medicina Nuclear**

*** Biológicos**
*** Enfermedad mínima residual**
(Fenotipo/Genotipo)

↓

*** TIPO E INTENSIDAD DE TRATAMIENTO**
*** VALORACIÓN DE LA RESPUESTA**

Historia del tratamiento de los LDCGB



TRATAMIENTO

* TERAPIA CELULAR

- TPH (M.O., S.P., SCU)
- Fracciones celulares. Medicina Regenerativa.

* DIANAS MOLECULARES

- Bioterapia (G-CSF,Ac anti CD 20, anti CD 33, etc)
- Inhibidores tirosin-cinasa
- Inhibidores proteasoma, moduladores angiogénesis, etc.

* PREPARADOS RECOMBINANTES

- Proteínas de coagulación (FVIII, FVIIa, etc)

* FARMACOLÓGICOS

- Antibióticos, antifúngicos, antieméticos, etc

Hitos en Hemoterapia

1970 * Bancos de sangre hospitalarios.

* Inicio del programa de acreditación (PABAS).

* VHBAg.

1980

* Real Decreto. Criterios técnicos y donación.

* VIH. Semi-automatización.

1990

* Centros de Transfusión. Automatización. Informatización. Gestión de calidad.

* VHC. Seguridad Transfusional.

* Terapia Celular.

2000

* Técnicas NAT

* Hemovigilancia. Normativa europea.

Equipo con Donnall Thomas

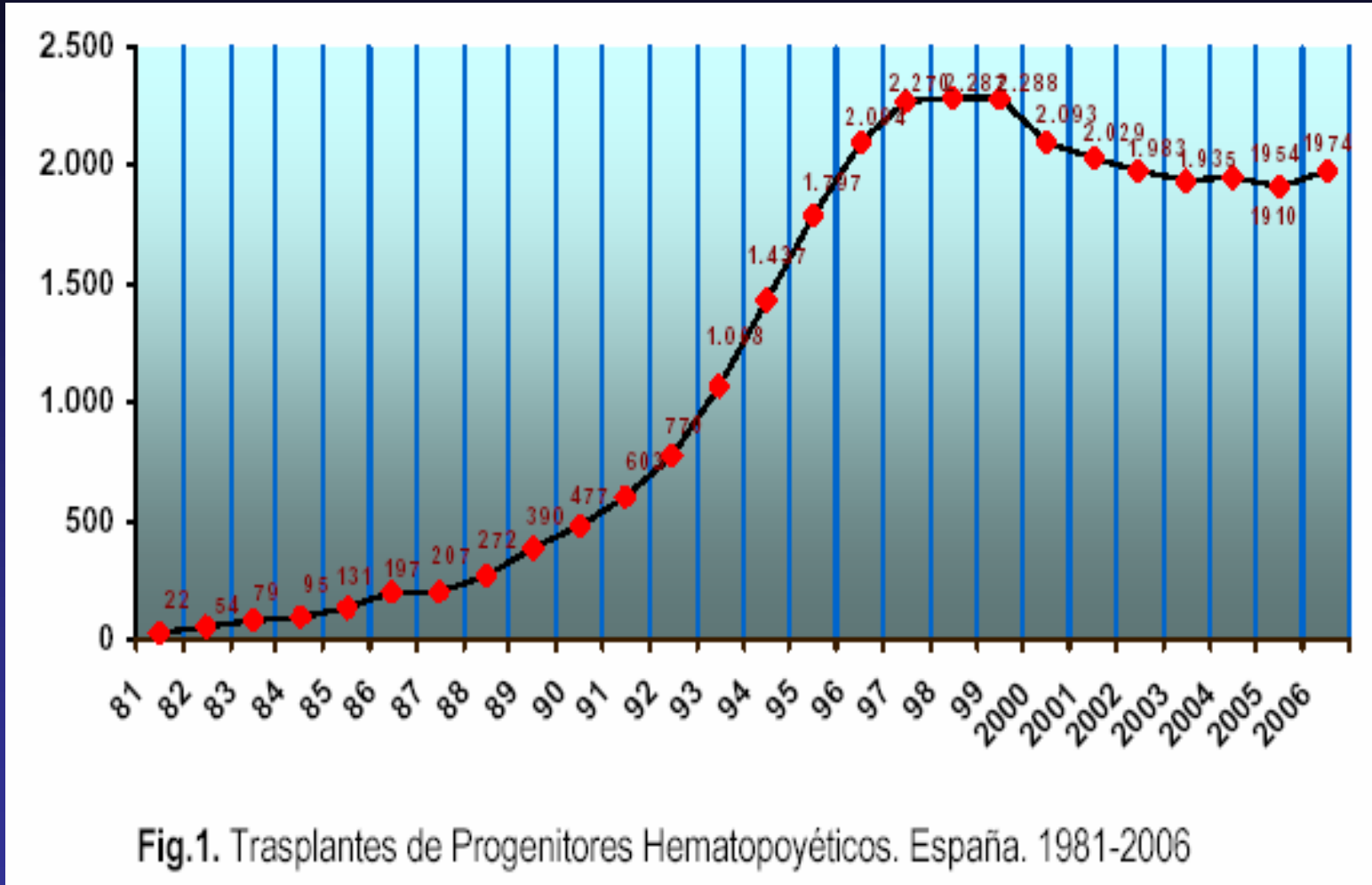


Fig.1. Trasplantes de Progenitores Hematopoyéticos. España. 1981-2006

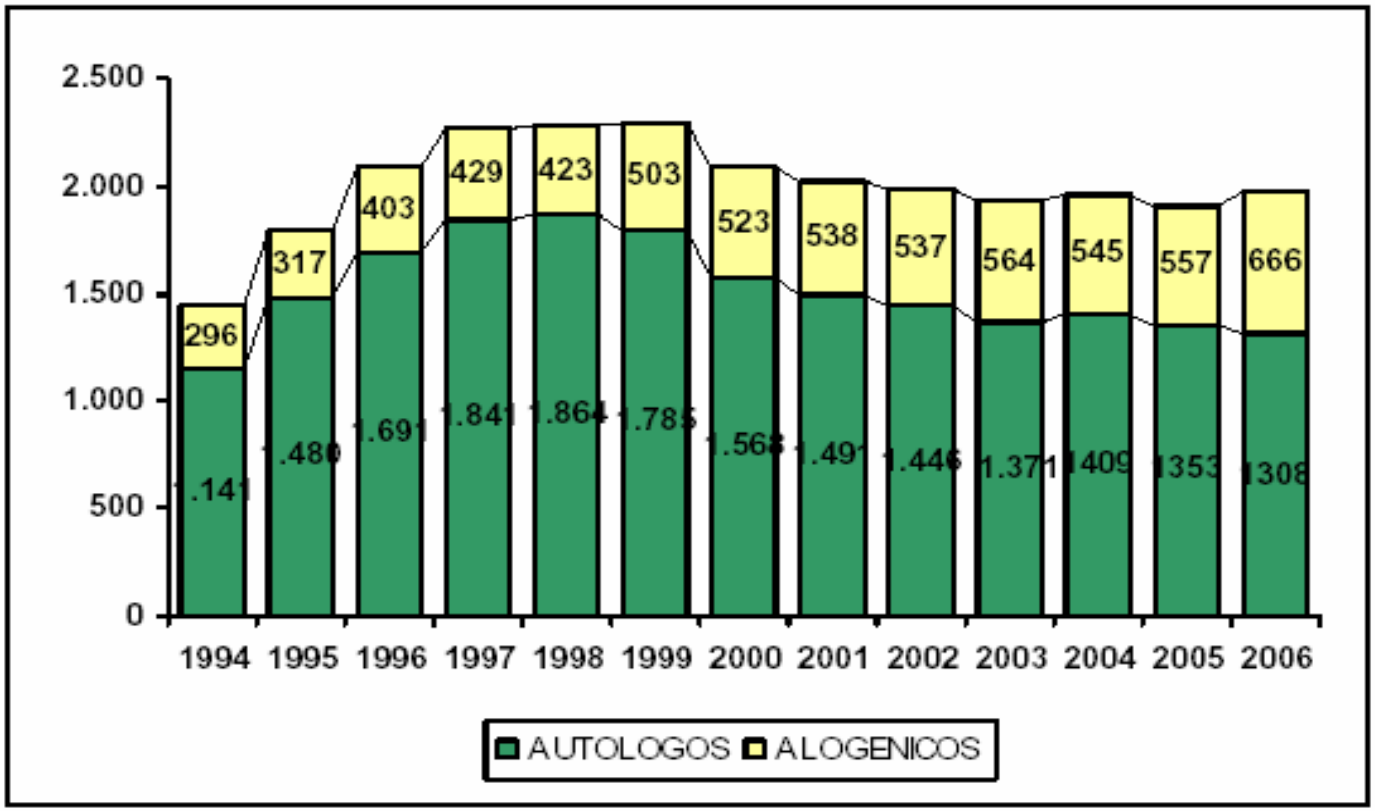
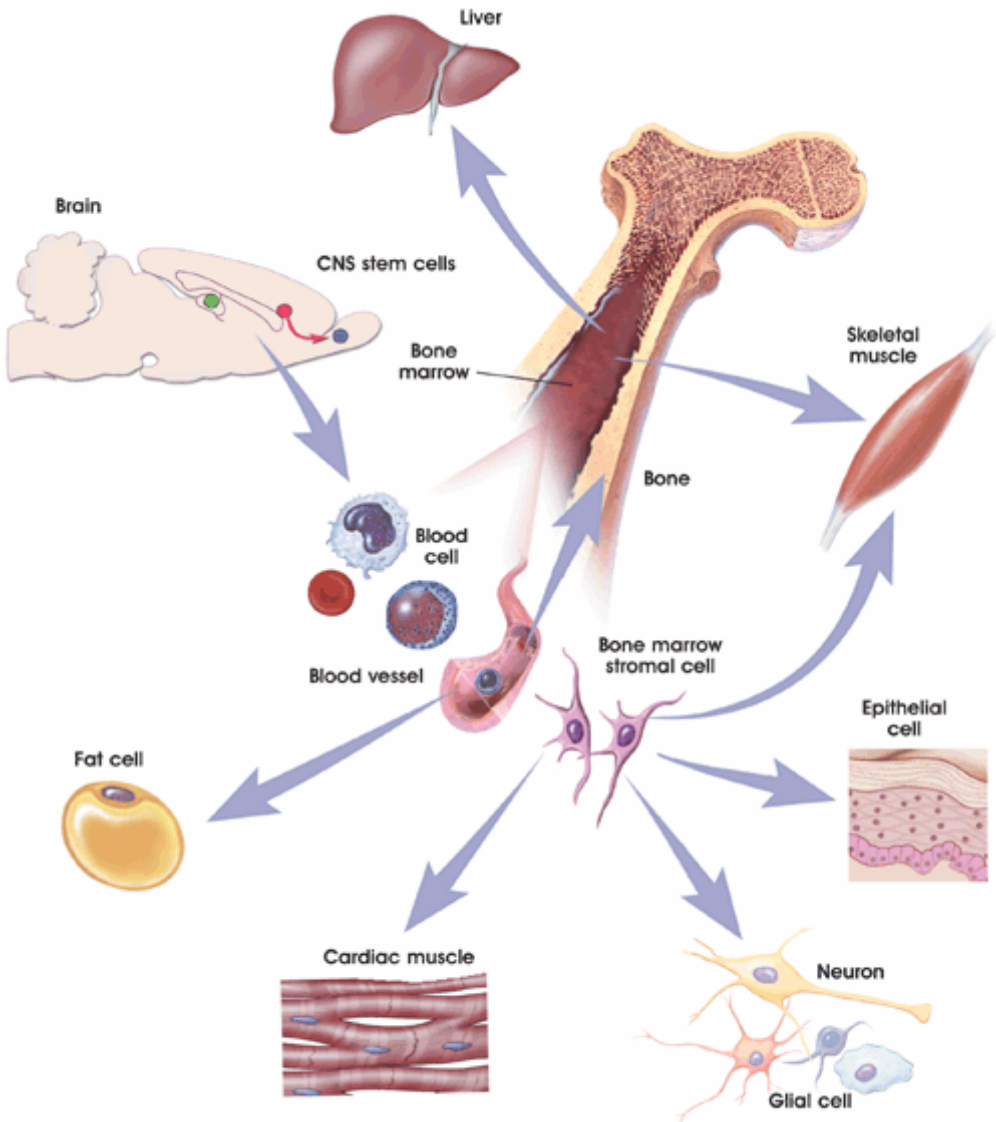


Fig.2. Trasplantes de progenitores hematopoyéticos Tipos. España. 1994-2006

Medicina Regenerativa: Terapia celular



HEMATOLOGÍA MODERNA
"La especialidad bilingüe"

Anatomía Patológica Radiología Microbiología Medicina Nuclear

¡Interdisciplinaria y con hábito de colaboración!

RAÍCES, DESARROLLO Y FUTURO DE LA HEMATOLOGÍA

-25 de Septiembre, 2008 –

-La Serena, Chile-

XVI Congreso Chileno Hematología

VI Congreso Medicina Transfusional

Prof. V. Vicente

Hospital Universitario Morales Meseguer

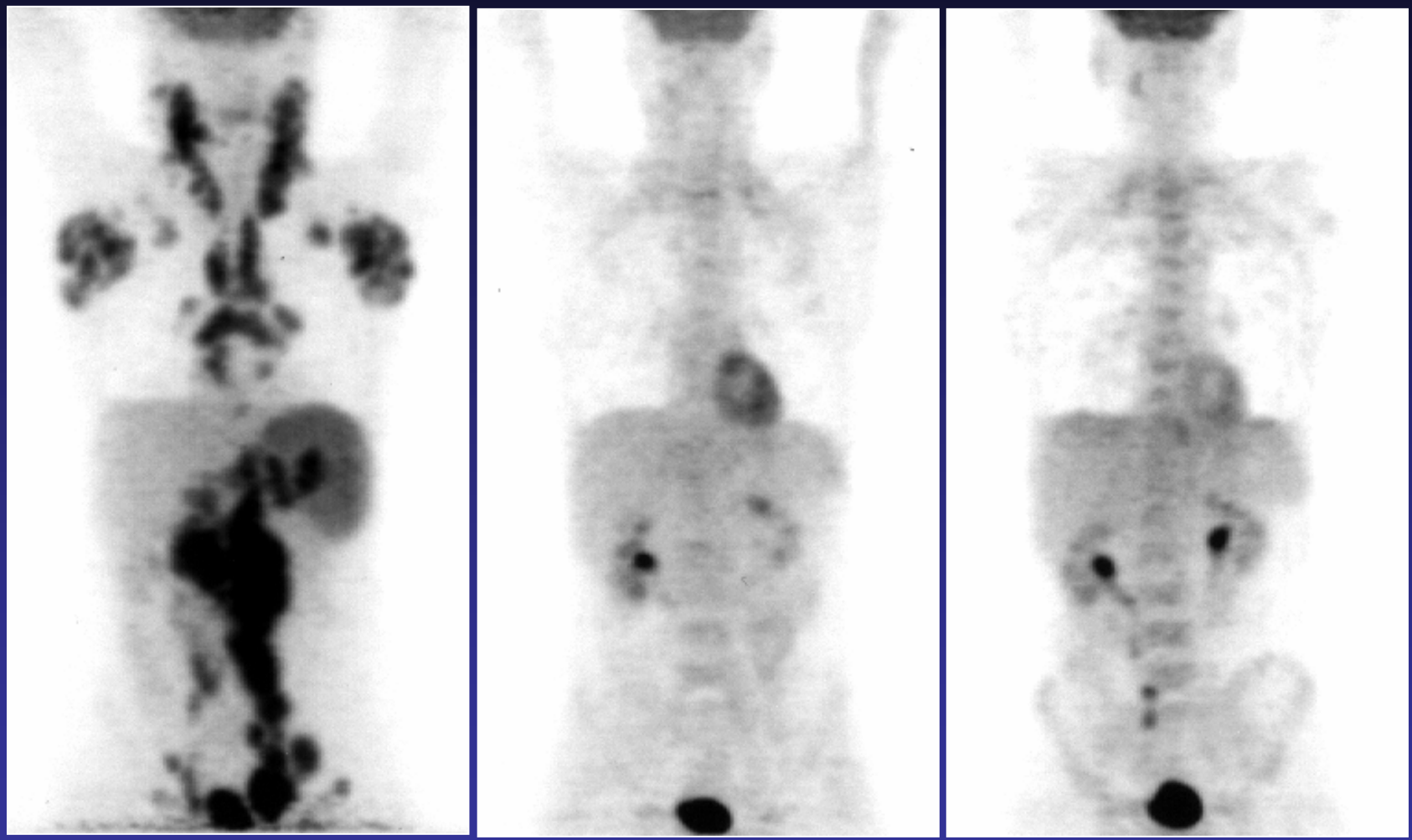
Murcia (España)

ESPECIALIDADES FRONTERA

* LABORATORIO

* ONCOLOGÍA MÉDICA

Importancia pronóstica del PET
Evaluación precoz de la respuesta



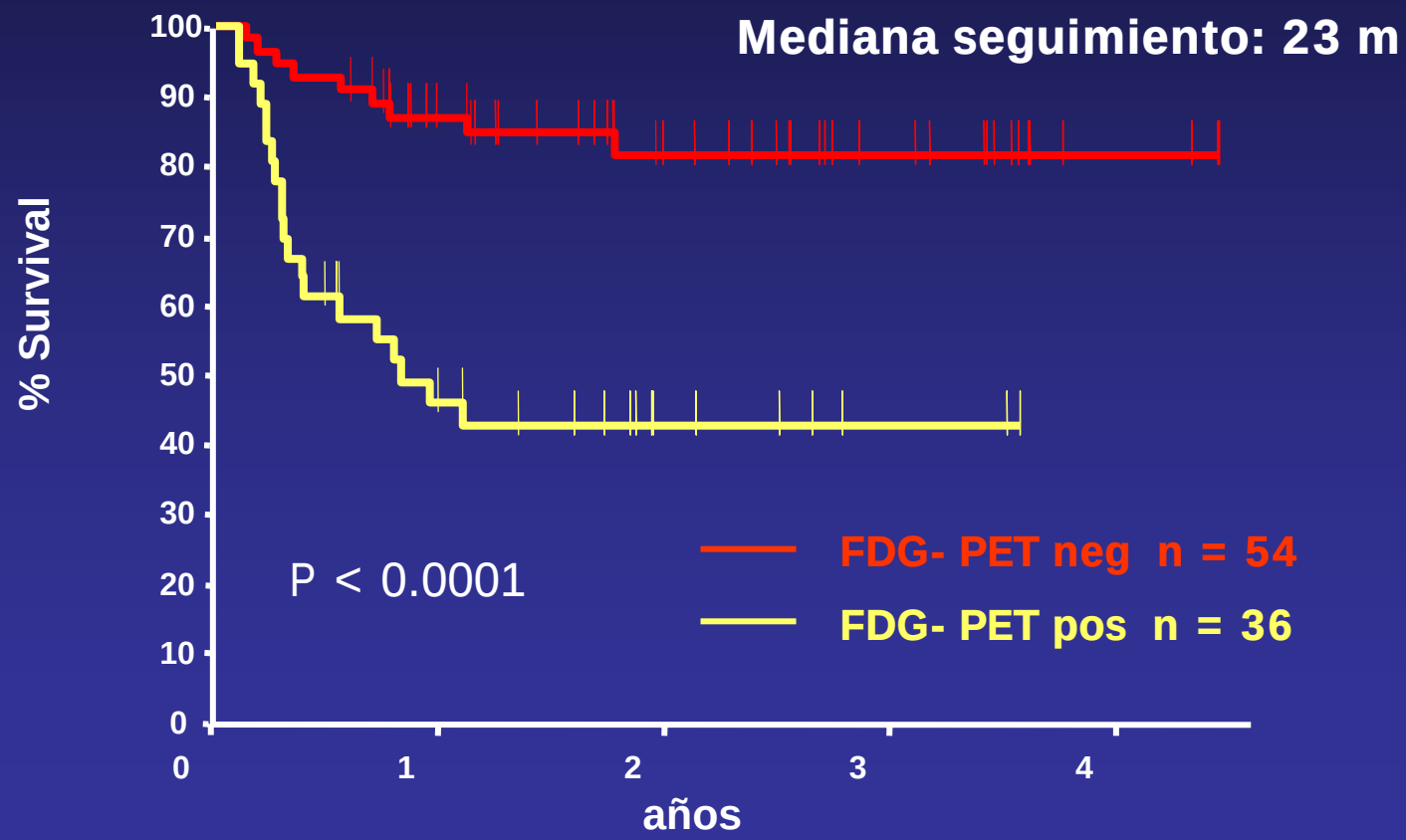
Antes del tratamiento | Después del ciclo 2 | Después del ciclo 4

FDG-PET2 (-)

C Haioun, Blood, 2005; 106:1376

Importancia pronóstica del PET
Evaluación precoz de la respuesta

SLE después del ciclo 2 (n=90)



C Haioun, Blood, 2005; 106:1376