

$\beta$  TALASEMIA MAYOR EN LA ARGENTINA

AURORA FELIU TORRES<sup>1</sup>, MARIANA BONDUEL<sup>1</sup>, GABRIELA SCIUCCATI<sup>1</sup>, ANA DEL POZO<sup>2</sup>, ARIEL ROLDÁN<sup>1</sup>, MARTA CIACCIO<sup>3</sup>, VIRGINIA ORAZI<sup>4</sup>, VIRGINIA FANO<sup>4</sup>, BLANCA OZUNA<sup>5</sup>, HORACIO LEJARRAGA<sup>4</sup>, FEDERICO SACKMANN MURIEL<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Hematología-Oncología, <sup>2</sup>Servicio de Medicina Transfusional, <sup>3</sup>Servicio de Endocrinología, <sup>4</sup>Servicio de Crecimiento y Desarrollo, <sup>5</sup>Servicio de Nutrición, Hospital de Pediatría Prof. Dr. Juan P. Garrahan, Buenos Aires

**Resumen** Se realizó el análisis de los pacientes con  $\beta$  talasemia mayor atendidos en el Hospital Juan P. Garrahan para determinar las características de esta población. Desde agosto de 1987 a julio de 2000 fueron admitidos 45 pacientes (27 varones-18 mujeres). Las mutaciones más frecuentes del gen  $\beta$  fueron: C-39 (30.7%); IVS-I nt 110 (20%); IVS-I nt 6 (13.3%); IVS-I nt 1 (4%). Los genes  $\alpha$  fueron normales en 42 pacientes, 1 paciente presentó genes  $\alpha$  triplicados y cuadruplicados, y 2 pacientes no fueron estudiados. Seis pacientes fueron heterocigotas para la mutación -158  $\gamma^c$ . El trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas se realizó en 7 pacientes. Se constataron infecciones relacionadas con transfusiones y aloanticuerpos en 6.7% de los pacientes. La evaluación del crecimiento en la última consulta mostró que no hay diferencias significativas en la estatura de las mujeres con la población de referencia, pero sí en los varones (5 con baja estatura). Existe una tendencia a presentar tronco corto. La velocidad de crecimiento en la edad prepuberal fue normal. No se registraron lesiones esqueléticas relacionadas a desferroxamina. Se observó retraso puberal e hipogonadismo hipogonadotrófico (35.7% pacientes) y anomalías del eje GH / IGF- I (12.5% pacientes). Dos pacientes presentaron intolerancia a la ingesta de glucosa. Ningún paciente desarrolló diabetes mellitus, alteración tiroidea o adrenal. Un paciente presentó alteraciones cardíacas. Cuarenta y dos pacientes están vivos y 3 murieron (insuficiencia cardíaca 1, sangrado cerebral 1, sepsis 1) En conclusión la  $\beta$  talasemia mayor tuvo un origen italiano; la mayoría de los pacientes iniciaron el régimen transfusional y el tratamiento quelante tardíamente, siendo los principales inconvenientes para lograr el éxito del tratamiento.

**Palabras clave:**  $\beta$  talasemia mayor, Argentina, manejo clínico

**Abstract**  *$\beta$  Thalassemia Major in Argentina.* An analysis of  $\beta$  thalassemia major patients seen at Hospital Juan P. Garrahan was carried out in order to determine the characteristics and outcome of the population. From August 1987 to July 2000, 45 patients were admitted (27 males-18 females). The most common  $\beta$  globin gene defects were C-39 (30.7%); IVS-I nt 110 (20%); IVS-I nt 6 (13.3%); IVS-I nt 1(4%).  $\alpha$  globin genes were normal in 42 patients, 1 patient had triplicate and cuadruplicate  $\alpha$  globin genes and 2 patients were not analyzed. Six patients of 5 families were heterozygous for -158 $\gamma^c$  mutation. Allogeneic stem cell transplantation was performed in 7 patients, with an identical sibling. Transfusion-related infections and alloantibodies were detected in 6.7% patients. Growth assessment showed no significant difference in the stature of girls compared to the reference population, but 5 boys had short stature. There is a tendency to short trunk. Growth velocity was normal at prepubertal age. No X-ray lesions related to desferrioxamine were observed. Delayed puberty and hypogonadotropic hypogonadism were found in 35.7% and abnormalities in GH/IGF-I axis in 12.5% of the patients. Impaired glucose tolerance was found in 2 patients. No patient developed diabetes mellitus, thyroid or adrenal insufficiency. One patient had cardiac complications. Forty-two patients are alive and 3 died (cardiac failure 1, central nervous system bleeding 1, sepsis 1). We conclude that  $\beta$  thalassemia major, originated mainly from Italian immigrants, has a cumbersome treatment and is severely hindered by the lack of adequate economic resources in our patients.

**Key words:**  $\beta$  thalassemia major, Argentina, clinical management

Las talasemias son un grupo heterogéneo de anemias hereditarias, que afectan la síntesis de la hemoglobina.

Las formas leves se encuentran entre los trastornos genéticos más comunes, mientras que las formas graves, ocasionan una morbilidad y mortalidad elevada en todo el mundo<sup>1</sup>.

La distribución mundial de las talasemias, coincide con la del paludismo, siendo muy frecuente en los países de la Cuenca del Mediterráneo, Norte de África, Oriente, India y Sudeste Asiático. La migración de las

Recibido: 6-IX-2001

Aceptado: 7-I-2002

**Dirección postal:** Dra. Aurora Feliu Torres, Servicio de Hematología-Oncología, Hospital de Pediatría Prof. Dr. Juan P. Garrahan, Combate de los Pozos 1881, 1245 Buenos Aires, Argentina  
Fax: (54-11) 4308-5325 e-mail: afeliutorres@yahoo.com

poblaciones ha extendido a las talasemias a otros países europeos, América del Norte, Sudamérica y Australia<sup>2</sup>.

En 1925, Thomas Cooley y Pearl Lee describieron la entidad que posteriormente se denominaría anemia de Cooley o  $\beta$  talasemia mayor ( $\beta$ TM)<sup>3</sup>. La enfermedad se caracteriza por anemia severa, hepatoesplenomegalia, retardo grave del crecimiento y deformidades óseas. El defecto básico reside en las mutaciones que afectan al gen  $\beta$  las que disminuyen o anulan la síntesis de las cadenas  $\beta$  de la globina. Esto ocasiona que las cadenas de globina  $\alpha$  no apareadas con sus complementarias no  $\alpha$  formen inclusiones intracitoplasmáticas insolubles. El complejo efecto deletéreo de estas inclusiones determina, no sólo la muerte celular intramedular (eritropoyesis ineficaz), sino que además los eritrocitos que alcanzan la circulación tienen una sobrevida acortada. La combinación de estos eventos explica la gran expansión medular de los pacientes con  $\beta$ TM<sup>2</sup>.

El tratamiento actual de la  $\beta$ TM es la terapia transfusional, introducida por Wolman y modificada a mediados de la década del 70<sup>4</sup>.

A pesar de que el régimen de transfusiones mejoró el pronóstico a corto plazo en forma dramática, pronto se evidenciaron las complicaciones producidas por las transfusiones, siendo las más graves la sobrecarga de hierro y las infecciones<sup>5</sup>.

A fines de 1970, se introdujo la terapia quelante con desferoxamina (DFO) por vía subcutánea, constituyendo un gran avance. Lamentablemente, el agente quelante ideal aún no existe y la sobrecarga de hierro ocasiona la mayoría de las complicaciones observadas en la  $\beta$ TM<sup>6,7</sup>.

El trasplante alogénico de células progenitoras hematopoyéticas (TACPH) utilizando un hermano histoiéntico como donante es una alternativa terapéutica curativa en pacientes que han recibido un aporte transfusional y un tratamiento quelante apropiados<sup>8</sup>. El TACPH con donante familiar no histoiéntico o no familiar en pacientes con una sobrecarga elevada de hierro es una alternativa terapéutica controvertida.

Por lo tanto, la  $\beta$ TM se ha convertido en una enfermedad crónica, que representa un problema para la salud pública y requiere el trabajo coordinado de diversos especialistas.

Hemos realizado el análisis retrospectivo de los pacientes con  $\beta$ TM, que consultaron al Hospital Juan P. Garrahan, a fin de evaluar las características clínicas y de laboratorio.

## Materiales y métodos.

Fueron admitidos 45 pacientes desde agosto de 1987 hasta julio de 2000. El diagnóstico se realizó sobre la base de métodos hematológicos convencionales en 22 pacientes libres de transfusiones. Las muestras de sangre entera fueron colectadas con

EDTA como anticoagulante. Los índices hematológicos se obtuvieron utilizando un contador automático (*Coulter Counter Model T-660*). La electroforesis de hemoglobina se realizó en acetato de celulosa a pH 8.6<sup>9</sup>. La hemoglobina A<sub>2</sub> se midió por el procedimiento de cromatografía en columnas<sup>10</sup>. (*Helena Laboratories Cat. N° 5342*) y la hemoglobina fetal por el método de desnaturalización alcalina<sup>11</sup>. Se utilizó el test de isopropanol para investigar las hemoglobinas inestables<sup>12</sup>.

En 23 pacientes, con el antecedente de transfusiones previas a su ingreso, el diagnóstico se confirmó por biología molecular. Los ocho alelos más frecuentes en la Cuenca del Mediterráneo fueron investigados según lo descrito por Roldán y col.<sup>13</sup>. Las mutaciones poco frecuentes se identificaron mediante la secuenciación directa. El cluster  $\alpha$  se estudió por *southern blot* empleando una sonda homóloga al gen  $\alpha^2$ . La delección ( $\delta\beta$ )<sup>9</sup> siciliana fue analizada mediante Gap-PCR según lo descrito por Craig y col.<sup>14</sup>. La mutación -158  $\gamma^6$  Persistencia Hereditaria de Hemoglobina Fetal (PHHF) se estudió digiriendo con la enzima de restricción XmnI la región amplificada del promotor del gen  $\gamma^6$ . Se realizó el estudio de histocompatibilidad a los pacientes y su grupo familiar a fin de evaluar el TACPH.

La fenotipificación completa del glóbulo rojo (*ABO, Rhesus, Kell, Kidd, Duffy, MNSs, Lutheran, P, Lewis*), la detección de anticuerpos irregulares y el test de antiglobulina se realizaron antes del inicio del régimen de transfusiones.

Los estudios para detectar hepatitis B, C, VIH, HTLV I/II (a-HB core, HBsAg, a-HCV, a-HIV 1-2, p24 HIV ag, a-HTLV I/II) y la infección chagásica fueron realizados por el método de inmunoensayo enzimático. Para el tamizaje de brucelosis y sífilis se utilizaron los métodos de rosa de bengala y reagina plasmática rápida (RPR).

Todos los pacientes con serología negativa para hepatitis B fueron vacunados. Las transfusiones se iniciaron según el estado clínico de los pacientes y/o la observación de una hemoglobina menor de 7 g / dl. Se mantuvo un nivel de hemoglobina pre-transfusional de 9.5-10 g / dl. Se administraron 10 a 20 ml / Kg de peso de concentrado de glóbulos rojos (CGR) leucorreducidos con un hematocrito mínimo de 75% por unidad, cada 3 semanas. El cálculo anual del índice transfusional se obtuvo a partir del registro del peso del paciente, el nivel de hemoglobina pre y post transfusional, el volumen y el hematocrito del concentrado de glóbulos rojos administrado. La esplenectomía se indicó cuando el requerimiento transfusional anual excedió los 200 ml / Kg de peso de CGR. Las inmunizaciones contra *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* Tipo B y *Neisseria meningitidis* se indicaron antes de la esplenectomía y posteriormente, los pacientes recibieron profilaxis antibiótica con penicilina por vía oral.

El tratamiento quelante se inició cuando el nivel de ferritina sérica fue mayor o igual a 1000 ng / ml. La dosis de DFO suministrada fue de 25 a 50 mg / Kg por vía subcutánea durante 8 a 12 horas, 5 a 6 días de la semana, por medio de una bomba de infusión portátil. Sólo un paciente recibió deferiprone debido a intolerancia a la DFO y a la sobrecarga severa de hierro. El tratamiento con DFO se reinició post TACPH para erradicar la sobrecarga de hierro producto del tratamiento previo. El suplemento de vitamina C (50-125 mg) se indicó 1 hora después del inicio de la infusión de DFO. Las biopsias hepáticas se realizaron tanto para controlar la terapia quelante como para evaluar a los pacientes antes del TACPH. Se realizaron controles hematológicos trimestralmente (hemograma, ferritina sérica, calcio, fósforo, fosfatasa alcalina, magnesio, urea, creatinina, glucemia, bilirrubina total y directa, transaminasas glutámico oxalacética, glutámico pirúvica). Semestralmente los pacientes fueron evaluados por el Servicio de Crecimiento y Desarrollo, Endocrinología, y se controlaron las serologías para detectar infecciones relacionadas a las transfusiones. Anualmente se efectuó el control cardiológico (radiografía de tórax,

electrocardiograma, ecocardiograma), oftalmológico, y la audiometría. A los pacientes mayores de 10 años se les efectuó la prueba de sobrecarga a glucosa oral según normas<sup>15</sup>.

La evaluación endocrinológica incluyó: examen físico, peso, talla, estadio puberal, velocidad de crecimiento cada 6 meses. Se realizó anualmente la medición basal de TSH, T3, T4, T4 libre (*Abbot AXSYM*), anticuerpos anti-fracción microsomal y antitiroglobulina (aglutinación de partícula), PTH, cortisol (*DPC-IMMULITE*), LH, FSH (*Abbot AXSYM*), estradiol (*DPC IMMULITE / RIA Ultra Sensible-DFL*), testosterona (*DPC-IMMULITE / RIA IMMUNOTECH*), IGF-I (RIA luego de la extracción de las proteínas transportadoras) e IGFBP3 (*IRMA-DSL*). Ante la aparición de algún parámetro clínico y / o de laboratorio alterado se realizaron las pruebas funcionales necesarias: estudio de la secreción de hormona de crecimiento (GH) bajo estímulo con arginina-clonidina y las pruebas TRH / TSH y LHRH para la evaluación de los ejes tiroideo y gonadotrófico respectivamente.

El Servicio de Crecimiento y Desarrollo realizó el seguimiento longitudinal de 40 pacientes con evaluación clínica, radiológica y antropométrica. Las mediciones se realizaron en el gabinete de antropometría del servicio con instrumental Harpenden, de acuerdo a normas y técnicas estandarizadas<sup>16, 17, 18</sup>. Los parámetros evaluados fueron peso, talla, estatura sentada y se utilizaron los estándares nacionales<sup>19</sup>. Las proporciones corporales se evaluaron con la relación estatura sentada / estatura. La estatura sentada mide la altura del tronco<sup>20</sup>. Se calcularon las medianas del puntaje z, rango, desvío estándar (DS), error estándar (ES), y test t de significancia, de los datos de peso y talla en la última consulta. Se evaluó la velocidad de crecimiento en pacientes prepuberales.

La maduración esquelética (edad ósea) se realizó con el método de Tanner-Whitehouse II (RUS)<sup>21</sup>. La evaluación radiológica anual comprendió radiografías de cráneo y columna dorsolumbar (frente y perfil) y ambas rodillas (frente).

## Resultados

### Evaluación hematológica - transfusional

Cuarenta y cinco pacientes (27 varones / 18 mujeres) de 39 familias fueron incorporados al programa de atención de hemoglobinopatías de agosto de 1987 a julio de 2000. Se observó más de un miembro afectado en 4 familias y 3 parejas eran consanguíneas. La edad mediana al diagnóstico fue 1.43 años (rango 0.12-7.10) La edad mediana al momento de ingreso fue 4.42 años (rango 0.12-17) Veintidós pacientes fueron diagnosticados por métodos convencionales. Todos presentaron hepatoesplenomegalia de grado variable. La Tabla 1 muestra los datos de laboratorio de estos pacientes. En 23 pacientes, el diagnóstico fue confirmado por biología molecular debido al tratamiento transfusional previo. La Tabla 2 muestra el análisis molecular de toda la población estudiada. Veintinueve pacientes recibieron transfusiones regulares, 3 pacientes esporádicamente y 2 pacientes no recibieron transfusiones. La Tabla 3 muestra los parámetros hematológicos de los pacientes con transfusiones regulares. Siete pacientes ingresaron al programa de TACPH. Cuatro pacientes no continúan su control en el hospital. El TACPH se efectuó en 7 que po-

TABLA 1.- Datos de laboratorio de 22 pacientes al diagnóstico.

Paciente	Sexo / Edad años	Hb g/dl	Hto %	VCM fl	Hb F %	Hb α2 %
AG	M / 0.98	8.3	24.6	74.7	98.4	1.6
AL	M / 0.55	5.7	17.4	64.1	98.0	2.0
AL	M / 2.65	7.3	23.5	75.4	81.5	1.9
AA	F / 4.42	8.9	27.8	78.4	70.5	2.5
BF	M / 2.82	6.8	23.4	64.3	57.0	4.1
CF	M / 1.32	7.7	25.4	70.3	62.0	3.1
CJ	F / 0.94	5.9	19.8	66.2	65.0	2.9
CC	F / 0.65	5.3	17.4	71.6	99.0	1.0
CN	M / 1.17	6.0	17.8	63.4	49.2	4.4
DJ	M / 0.46	5.7	17.7	68.9	97.0	2.3
GJ	F / 7.74	6.7	20.8	72.3	98.0	2.0
HD	F / 4.32	8.1	27.0	69.0	33.7	4.1
MP	F / 2.95	4.7	14.5	65.2	97.0	2.6
MA	F / 0.61	7.2	24.5	65.0	23.7	6.2
MD	F / 0.24	6.4	20.3	72.0	98.0	1.1
MI	M / 2.18	8.1	25.0	59.3	78.0	3.7
MM	F / 3.64	7.5	24.4	64.6	18.0	3.9
MJ	M / 0.71	6.0	19.5	75.2	98.0	1.2
OM	M / 6.11	5.0	19.0	69.0	50.0	5.5
PN	M / 1.99	8.5	26.2	79.3	98.0	1.1
RD	M / 2.37	5.9	19.8	65.2	44.5	4.7
VE	M / 1.51	5.4	16.6	74.0	90.0	1.0

Hb: Hemoglobina, Hto: hematocrito.

VCM: Volumen corpuscular medio

seían un hermano histoiéntico (trasplante de médula ósea: 6 pacientes, sangre de cordón umbilical: 1 paciente) Seis de ellos pertenecían a la clase 2 y un paciente a la clase 1 de acuerdo a la clasificación de Lucarelli<sup>8</sup>. Seis pacientes están vivos con una reconstitución hematopoyética adecuada (mediana de seguimiento 17.1 meses, rango 0.8 - 51.2 meses). Un paciente falleció por una hemorragia cerebral asociada a una trombocitopenia refractaria a la transfusión de plaquetas el día + 14. En 3 pacientes se observaron las siguientes complicaciones relacionadas a TACPH: enfermedad injerto contra huésped aguda (grado IV) la que se resolvió completamente luego del tratamiento inmunosupresor (1 paciente); eritroblastopenia transitoria debido a incompatibilidad mayor de grupo sanguíneo que mejoró con el tratamiento con eritropoyetina 2 meses luego del trasplante (1 paciente); fallo del injerto con reconstitución hematopoyética autóloga que requirió un segundo trasplante de médula ósea (1 paciente). En 3 pacientes (6.7%) tratados antes de su ingreso al Hospital Juan P. Garrahan, se detectaron infecciones transmisibles por transfusiones: hepatitis B; hepatitis C y enfermedad de Chagas,

TABLA 2.– Genotipo de los pacientes con Beta Talasemia Mayor.

Familia #	# Pacientes / Sexo	Gen $\beta$	Cluster $\alpha$	PHHF -158 $\gamma^{\text{e}}$
1	1M	C-39	I-110	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ Normal
2	1F	C-39	C-39	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ Normal
3	1M	C-39	I-110	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ Normal
4	1M	C-39	C-39	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ Normal
5	1M	C-39	I-110	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ Heterocigota
6	1M	II-745	-87	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ Normal
7	1F	C-39	I-6	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ Normal
8	1M	I-6	I-110	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ Normal
9	1M	C-39	I-6	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ Normal
10	1F	C-39	I-6	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ Normal
11	1F	C-39	I-1	NE NE
12	1M	I-110	I-6	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ Normal
13	1M	I-110	I-6	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ Normal
14	1M	C-39	II-1	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ Normal
15	1M	II-745	$\delta\beta$	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ Normal
16	1M	I-110	I-1	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ Normal
17	1F	I-1	-29(A-G)	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ Heterocigota
18	1F	C-39	-87	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ Normal
19	1M	I-110	I-110	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ Normal
20	1F	I nt-3	I nt-3	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ Normal
21	1M	I-110	-87	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ Normal
22	1M	C-39	II-745	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ Normal
23	1M	-101	I-2	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ Normal
24	2F	I-110	I-1	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ Heterocigota
25	2F	C-39	I-6	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ Normal
26	1M / 2F	C-39	I-6	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ Normal
27	1F	C-39	Normal	$\alpha\alpha\alpha/\alpha\alpha\alpha\alpha$ Normal
28	1M	C-39	C-39	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ Normal
29	1F	I-110	II-1	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ Normal
30	1M	II-1	I-6	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ Heterocigota
31	1M	C-39	Fs6	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ Heterocigota
32	1M	NE	NE	NE NE
33	3M	I-110	I-6	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ Normal
34	1M	C-39	I-1	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ Normal
35	1M	C-39	NI	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ NE
36	1F	C-39	C-39	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ Normal
37	1F	I-110	II-1	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ NE
38	1M	I-110	I-110	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ Normal
39	1M	C-39	Hb Lepore	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$ Normal
Total	45 pacientes			

NE: no estudiado. NI: no identificado

TABLA 3.– Parámetros hematológicos en 32 pacientes transfundidos

Requerimiento transfusional (media)	142 $\pm$ 31.4 ml GRD / Kg / año
Hemoglobina pre-transfusional (media)	9.5 $\pm$ 0.53 g / dl
Hemoglobina post-transfusional (media)	12.4 $\pm$ 0.67 g / dl
Hemoglobina anual (media)	11 $\pm$ 0.53 g / dl
Ferritina sérica (mediana, rango)	1575.84 ng / ml (407.75 - 3162.48)

respectivamente. Los aloanticuerpos contra el antígeno Kell fueron detectados en 3 pacientes (6.7%) que recibieron transfusiones previamente a su ingreso al hospital.

Treinta y un pacientes recibieron DFO por vía subcutánea con una dosis (mediana) 36 mg / Kg (rango 25 - 50). Un paciente con intolerancia al tratamiento quelante con DFO recibió deferiprone por vía oral (75 mg / Kg / día) a fin de disminuir la sobrecarga severa de hierro (ferritina sérica 5434.2 ng / ml). Luego de 3 meses, el tratamiento con deferiprone debió ser interrumpido por presentar fiebre y neutropenia severa. (número absoluto de neutrófilos (NAN)  $0.08 \times 10^9/L$ ). Cuatro días después y sin mediar un tratamiento específico, el NAN retornó a valores mayores a  $2.0 \times 10^9/L$ . El deferiprone fue reiniciado con la misma dosis previa no observándose nuevos episodios de neutropenia. Dos años después de iniciado el tratamiento y ante la falta de un descenso del nivel de ferritina (4100 ng / ml), la dosis de deferiprone se aumentó a 100 mg / Kg / día y se asoció a DFO subcutánea 4 g / 48 horas. La combinación de ambos agentes quelantes permitió disminuir la ferritina a 1511.4 ng / ml en el lapso de 2 años, con excelente tolerancia y sin efectos adversos. De los 7 pacientes a los que se les efectuó TACPH, 2 reiniciaron el tratamiento quelante con DFO. Un paciente requirió 12 meses de DFO (dosis 40 mg / Kg / día) alcanzando un nivel de ferritina de 384 ng / ml. El otro paciente aún se encuentra cumpliendo la terapia quelante pues no normalizó la ferritina sérica (932 ng / ml).

La esplenectomía se realizó en 16 pacientes mientras que en 3 pacientes se efectuó una esplenectomía más colecistectomía.

#### Evaluación del crecimiento

La evaluación del crecimiento físico se realizó en 40 pacientes, 15 niñas cuya edad mediana fue de 8.85 años (rango 1.82 - 21.86), y 25 varones con una edad mediana de 7.41 años (rango 1.41 - 16.99). El seguimiento longitudinal se efectuó durante un período medio de 3.10 años (rango 6 meses - 8.55 años). En el 20% de los

pacientes el seguimiento fue menor de 1 año, en el 37.5% entre 1 y 3 años, en el 27.5 % entre 3 y 6 años y en el 15% más de 6 años. La tabla 4 muestra las medianas, rango, desvío estándar y error estándar del puntaje Z de peso y talla de niñas y varones en la última consulta. En las niñas la media no fue estadísticamente diferente de cero para peso y talla, en los niños fue significativamente menor de cero para ambos datos. Se encontró baja talla en 5 varones, 1 con diagnóstico tardío de la enfermedad, 2 con hipogonadismo, 1 con déficit parcial de hormona de crecimiento y otro con enfermedad de Hirschsprung asociada a  $\beta$ TM. La relación estatura sentada / estatura se evaluó en 35 pacientes, 21 niñas y 14 niños, 88.57% (31 pacientes) se encuentran entre el centilo 3 y 50, y el 8.57% (3 pacientes) entre el 51 y el 97 siendo éstas normales. Sólo en 1 paciente esta relación fue patológica, por debajo del centilo 3. En la mayoría de los pacientes existe una tendencia a tronco corto, ya que la distribución encontrada tiene una clara desviación a la izquierda.

La velocidad de crecimiento se evaluó en el período prepuberal del último año de seguimiento, en 17 niños (5 niñas y 12 niños): el 47.06% correspondió a los centilos 3 y 50, el 47.06% entre el 51 y 97, y el 5.88% fue mayor del centilo 97. No hubo diferencias significativas con la distribución esperada en la población normal.

De los 36 pacientes que realizaron las radiografías para su evaluación esquelética, en 11 se encontraron signos radiológicos de osteopenia. Con respecto al compromiso esquelético, no se observaron lesiones óseas en ninguno de los pacientes en tratamiento con DFO.

Los datos de peso y talla del seguimiento de los 40 pacientes se muestran en las Figuras 1, 2, 3 y 4.

Si observamos las figuras de las niñas parecen crecer con curvas paralelas a la de los centilos de los estándares, esto refleja una velocidad de crecimiento normal. Hay sin embargo pacientes que merecen un comentario. La paciente A (Figura 2) en la curva, crece a una velocidad normal de los 9 a los 12 años, comenzando el empuje puberal de crecimiento recién alrededor de los 14 años, edad en que tenía mamas en estadio 3, se trata de una pubertad retrasada, evaluada por

TABLA 4.- Datos de la última consulta de peso y talla de ambos sexos. Puntaje Z, desvío estándar (DS), error estándar (ES) y test «t» de significancia

Sexo	N	Edad $\bar{X}$ (años)	Puntaje Z	$\bar{X}$ (rango)	DS	ES	Test "t"
Niñas	15	8.85	Peso	-0.32(-1.98 / 0.55)	0.8	0.21	1.56
			Talla	-0.34 (-1.95 / 0.91)	0.94	0.24	1.61
Niños	25	7.41	Peso	-0.79 (-2.82 / 0.88)	1.10	0.22	3.62*
			Talla	-0.61 (-3.60 / 2.14)	1.14	0.29	2.13*

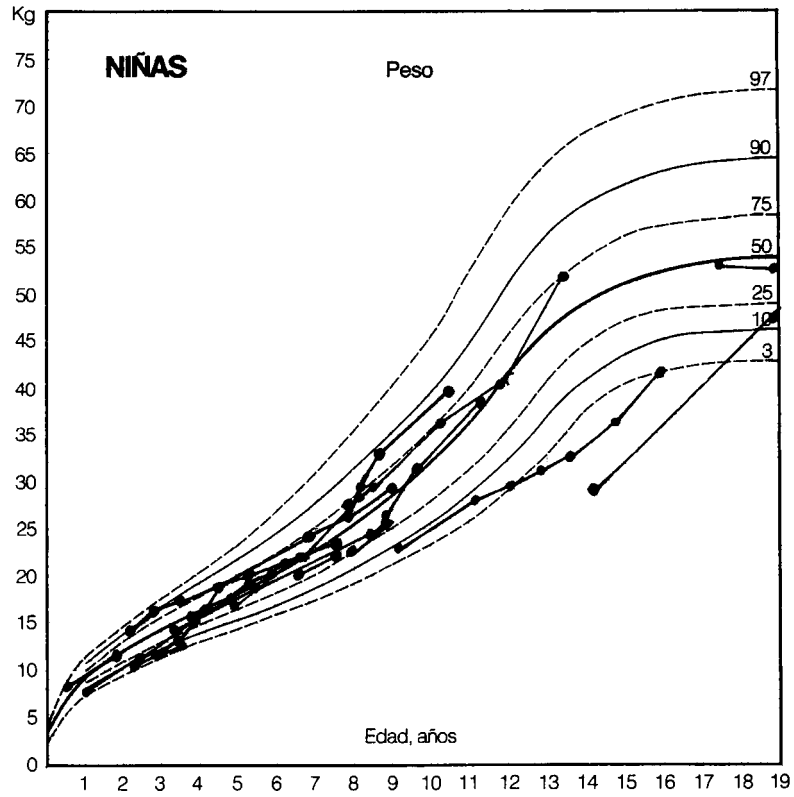


Fig. 1.- Gráfico de seguimiento de peso en niñas. Gráficos preparados por Lejarraga H. y Orfila *J Arch Arg Pediatr* 1987; 85: 209-22.

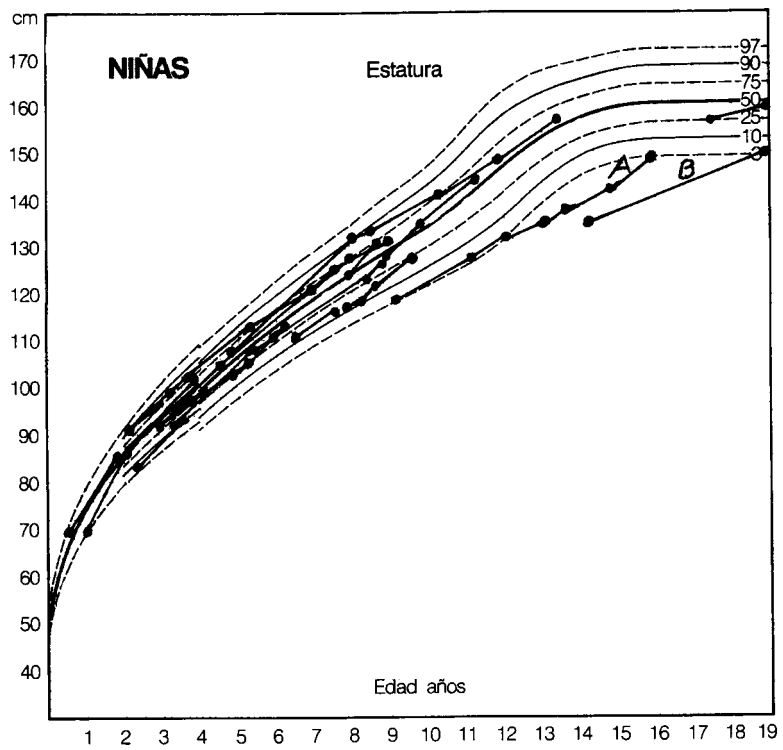


Fig. 2.- Gráfico de seguimiento de estatura en niñas. Gráficos preparados por Lejarraga H. y Orfila *J Arch Arg Pediatr* 1987; 85: 209-22.

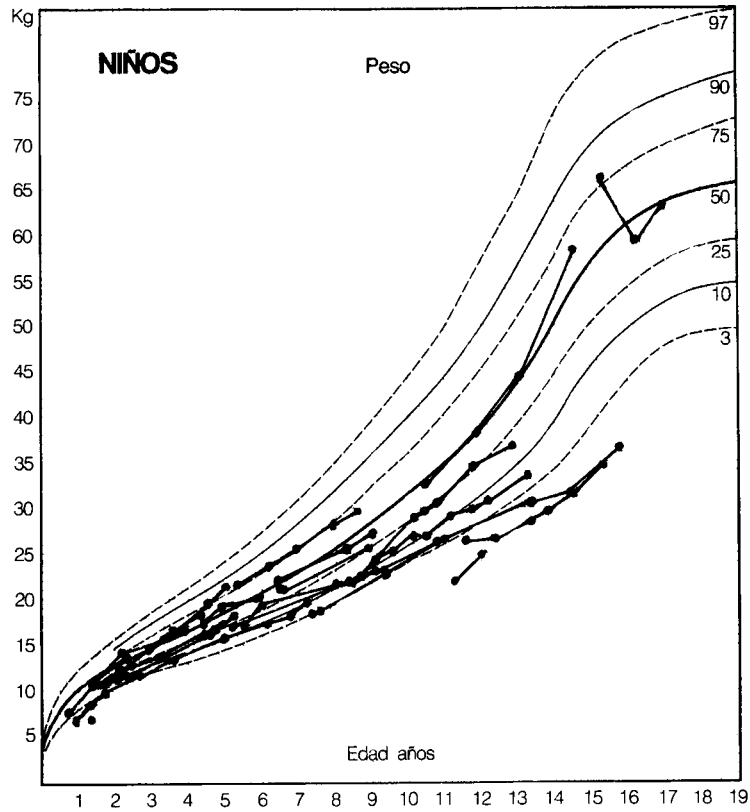


Fig. 3.- Gráfico de seguimiento de peso en niños. Gráficos preparados por Lejarraga H. y Orfila J Arch Arg Pediatr 1987; 85: 209-22.

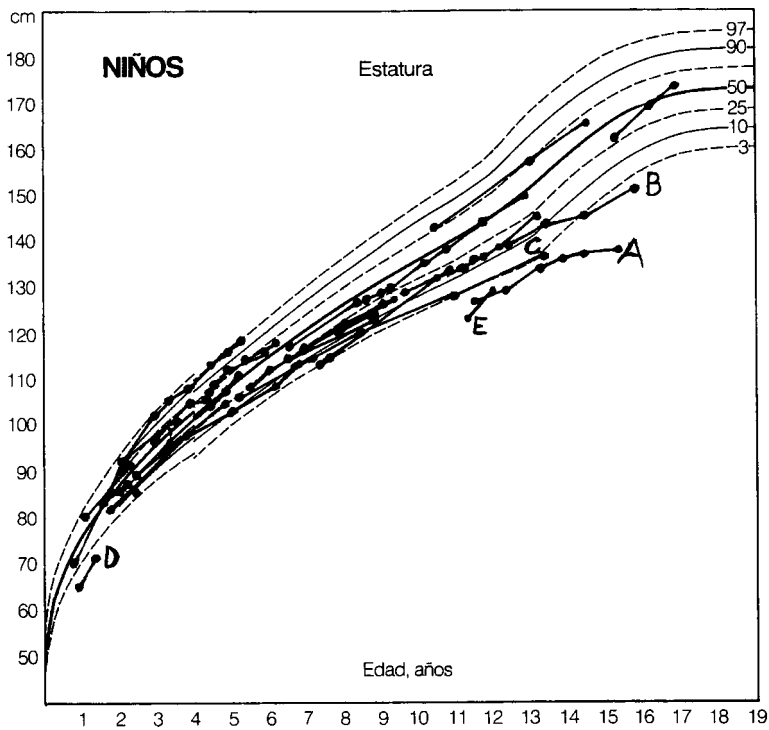


Fig. 4.- Gráfico de seguimiento de estatura en niños. Gráficos preparados por Lejarraga H. y Orfila J., Arch Arg Pediatr 1987; 85: 209-22

Endocrinología como hipogonadismo hipogonadotrófico.

La paciente B tiene a los 14 años un déficit de talla pero lo recuperó a los 19 años, coincidiendo con retraso puberal.

Los niños muestran en cambio algunas diferencias. Hay más niños por debajo que por encima del centilo 50 entre los 6 y 12 años. Si bien las curvas parecen paralelas a los centilos (reflejando una velocidad normal) algunas expresan un retraso patológico del crecimiento, como por ejemplo: el paciente A (Figura 4) con baja talla como resultado de retraso puberal y resistencia parcial a la hormona de crecimiento. La curva B presenta crecimiento adecuado hasta alrededor de los 12 años, luego enlentecimiento y baja talla como expresión de un retraso puberal. La curva C muestra un retraso de crecimiento asociado a déficit parcial de hormona de crecimiento, mientras que las curvas D y E muestran a un paciente con  $\beta$ TM asociada a enfermedad de Hirschsprung y a otro con diagnóstico tardío de  $\beta$ TM.

#### *Evaluación endocrinológica*

Se realizó el seguimiento endocrinológico en 32 pacientes (15 mujeres y 17 varones). La edad cronológica (promedio  $\pm$  DS) fue de  $10.51 \pm 5.34$  años para las mujeres y  $11.82 \pm 4.29$  años para los varones. Entre las mujeres 8 eran prepúberes y sin patología endocrinológica. De las 7 pacientes en edad puberal (>12 años), 4 estaban cursando o completaron pubertad normal. Una paciente tuvo una pubertad retrasada y dos pacientes presentaron hipogonadismo hipogonadotrófico parcial. Una de ellas de 17.72 años, comenzó su pubertad a los 12.78 años y no presentó menarca. El test de LHRH mostró gonadotropinas en niveles normales bajos (LH 0.3; 5.53; 6.56 mUI / ml y FSH 2.56; 8.41 y 12.18 mUI / ml). El nivel de estradiol también fue bajo 26.6 pg / ml. La otra paciente de 13 años, con edad ósea de 12 años, tuvo comienzo puberal a los 10 años, con detención del progreso puberal y sin menarca, el nivel de gonadotropinas era prepúber, (LH 0.73; 1.75; 3.62 mUI / ml y FSH 1.46; 1.94; 2.23 mUI / ml) El nivel de estradiol también fue muy bajo 9.2 pg / ml. Esta paciente tiene además, una deficiencia parcial de hormona de crecimiento, con un pico máximo en respuesta a los estímulos de 5.8 ng / ml y un nivel de IGF-I bajo para su edad y estadio puberal (106.8 ng / ml).

Entre los varones, 10 son prepúberes, uno de ellos tiene deficiencia de hormona de crecimiento, con un pico máximo de respuesta a estímulos de 3.6 ng / ml. El nivel de IGF-I fue de 31.9 ng / ml.

Cinco pacientes estaban cursando o completaron pubertad espontáneamente, uno de ellos tuvo deficiencia parcial de hormona de crecimiento con un pico máximo de hormona de crecimiento en respuesta a los estí-

mulos de 6.8 ng / ml, el nivel de IGF-I era de 128.8 ng / ml, bajo para su estadio puberal. Este paciente recibió tratamiento con hormona de crecimiento con buena respuesta, su velocidad de crecimiento pasó de 3.2 a 8 cm / año en los primeros 7 meses de tratamiento. Dos pacientes presentaron un retraso puberal comenzando su pubertad a los 17 y 15.5 años respectivamente. El primero de estos pacientes tiene una talla muy baja y no aumentó la velocidad de crecimiento luego del tratamiento con testosterona, previo al inicio puberal, la respuesta máxima de hormona de crecimiento a los estímulos fue de 9.1 ng / ml y el nivel de IGF-I fue de 158 ng / ml. Se trató con hormona de crecimiento asumiendo el cuadro como una resistencia parcial a la hormona de crecimiento y la velocidad de crecimiento pasó de 5 cm / año a 8.8 cm / año en el primer año de tratamiento. Ningún paciente tuvo alteración de la función tiroidea ni adrenal.

#### *Evaluación nutricional*

Se realizaron 32 pruebas de sobrecarga de glucosa oral a 18 pacientes (10 varones / 8 mujeres). La edad mediana fue 14 años (8.5 - 21.9). Al momento del estudio, 10 pacientes eran prepúberes y 22 pacientes eran púberes. La media del índice de masa corporal fue de  $18.7 \pm 2.19$  Kg / m<sup>2</sup>. La media de ferritina sérica fue de  $1932.8 \pm 798.4$  ng / ml durante al año previo a la evaluación. Ocho pacientes tuvieron ferritina sérica < 1500 ng / ml y 24 pacientes > 1500 ng / ml. Dos pacientes varones presentaron intolerancia a la glucosa oral según criterio de la Asociación Americana de Diabetes<sup>15</sup>, en ambos la ferritina sérica fue superior a 1500 ng / ml. Ningún paciente desarrolló diabetes mellitus.

#### *Evaluación cardiológica*

De las evaluaciones cardiológicas realizadas, sólo 1 paciente presentó insuficiencia cardíaca secundaria a sobrecarga severa de hierro que ocasionó su muerte a los 16 años.

## **Discusión**

Las talasemias son un grupo heterogéneo de trastornos genéticos en los cuales la producción normal de la hemoglobina se encuentra alterada en forma parcial o completa, debido a la síntesis defectuosa de una o más cadenas de globina. Las formas homocigotas o doble heterocigotas causan graves problemas de salud en gran parte del mundo<sup>2</sup>.

El equipo multidisciplinario del Hospital Juan P. Garrahan se organizó a fin de asistir en forma integral a 45 pacientes con  $\beta$ TM que representan el 45.5% de los pacientes con  $\beta$ TM actualmente con vida en el país, de



acuerdo al censo de la Fundación Argentina de Talasemia.

Dado las características inmigratorias de nuestro país se estudiaron las ocho mutaciones más frecuentes en la Cuenca del Mediterráneo. Estas mutaciones representaron 86.6% de los genes afectados y las cuatro más comunes (C-39; IVS-I nt 110; IVS-I nt1; IVS-I nt6) representaron el 72% de los alelos  $\beta$  talasémicos en nuestra población. Todos los pacientes fueron doble heterocigotas excepto 4 homocigotas. Esta observación no es sorprendente ya que la consanguinidad es rara, el espectro de los alelos es bastante amplio y las mutaciones involucradas fueron las más frecuentes.

Las mutaciones encontradas en la población estudiada confirman que la  $\beta$ TM en la Argentina tiene principalmente un origen italiano. Las pequeñas diferencias encontradas podrían representar la influencia de otros inmigrantes, especialmente de España<sup>22</sup>.

Si bien el número de pacientes trasplantados fue reducido (7 pacientes), la sobrevida global (85%) es similar a la reportada por los centros de mayor experiencia<sup>8, 23</sup>.

El 58% de los pacientes evaluados habían iniciado su tratamiento en forma tardía y / o con un esquema transfusional inadecuado antes de su ingreso al Hospital. Las infecciones relacionadas a las transfusiones (6.7%) y la alosensibilización a antígenos eritrocitarios (6.7%) fueron detectadas en pacientes tratados previamente a su ingreso, enfatizando la importancia de la evaluación detallada antes y luego del inicio del régimen transfusional, como así también del uso de filtros para la leucodepleción<sup>24, 25</sup>. Ningún paciente presentó reacciones hemolíticas transfusionales.

La consecuencia más importante de las transfusiones es la sobrecarga de hierro. De no mediar un tratamiento adecuado, el paciente sufre complicaciones endocrinas múltiples, alteraciones del crecimiento, daño hepático y la muerte sobreviene por fallo cardíaco en la segunda década de la vida. La DFO es el agente quelante de elección para el manejo de la siderosis transfusional<sup>26, 27, 28</sup>. Desde 1980, la DFO se administra por vía subcutánea por medio de una bomba de infusión portátil durante 8-10 horas. La dosis se ajusta a la sobrecarga de hierro y a la edad del paciente. Actualmente la terapia quelante se inicia cuando la ferritina sérica es  $>1000$  ng / ml o luego de las primeras 10-20 transfusiones. Los pacientes evaluados tuvieron serias dificultades para cumplir con el tratamiento quelante. Las causas del incumplimiento del mismo fueron varias, destacándose no sólo las de orden económico, sino también los factores psicológicos (falta de conocimiento adecuado sobre la enfermedad y las razones del tratamiento, ansiedad y temor sobre los efectos adversos de la DFO, y la complejidad del tratamiento quelante diario). Esto queda reflejado en los niveles de ferritina sérica de los pacientes.

En un paciente fue necesario la administración de deferiprone, pero su eficacia sólo se evidenció luego de asociar este quelante a DFO subcutánea. Los estudios de Wonke y Breuer<sup>29,30</sup> proveen el apoyo racional para el uso combinado de los dos agentes quelantes actualmente disponibles. El deferiprone con capacidad alta para movilizar al hierro y cederlo a otros ligandos, es complementado por la DFO, el segundo quelante con menor capacidad de movilización y una tendencia a retener al hierro. De esta manera, ambas drogas optimizan su acción quelante.

Los pacientes con  $\beta$ TM luego del TACPH aún requieren un monitoreo estricto para evaluar las lesiones sufridas en los diferentes órganos como resultado de la enfermedad y del tratamiento previo. La sobrecarga de hierro es una de las complicaciones más importantes. Los métodos propuestos para su control post TACPH son la flebotomía, reservada para los pacientes con buen acceso venoso, y el tratamiento quelante<sup>31,32</sup>. En nuestro grupo, 2 de los 7 pacientes reiniciaron el tratamiento con DFO con excelente tolerancia. Uno de ellos normalizó el nivel de ferritina 384 ng / ml en 12 meses.

La historia natural de la  $\beta$ TM muestra un crecimiento normal hasta alrededor de los 8 a 10 años, con una velocidad de crecimiento lenta en la etapa puberal. La baja estatura es frecuente, sus causas no son del todo conocidas pero intervienen la anemia crónica, el déficit de folatos, las alteraciones endocrinológicas y el uso de altas dosis de desferoxamina<sup>33</sup>. En esta muestra, analizando los datos de la última consulta, en las niñas no hay diferencias con la población de referencia, pero sí en los varones, 5 pacientes con baja talla que correspondió al 12.5% del total. La cifra es baja si la comparamos con otros centros de referencia<sup>34</sup>.

Con respecto a la tendencia a presentar tronco corto, se observó en el 88.57% de los pacientes estudiados. Otros autores coinciden con este hallazgo y sugieren que podría ser parte del patrón específico de la  $\beta$ TM y no sólo debido a las otras causas relacionadas con la falla de crecimiento.

La osteopenia relacionada con  $\beta$ TM es multifactorial, en ella interaccionan la falla de crecimiento, la progresión de la enfermedad, la hiperplasia medular y también el retraso puberal. Las imágenes radiológicas como disminución de la altura de los cuerpos vertebrales, disminución de la trama ósea, fueron encontradas en 11 de los 36 pacientes evaluados, hecho que coincide con otros autores<sup>35, 36, 37</sup>. No se evaluó la relación de osteopenia con la edad ni con hormonas sexuales. Queda pendiente el análisis de las densitometrías óseas realizadas.

Las lesiones esqueléticas por el uso de desferoxamina están relacionadas a altas dosis, mayores de 60 mg / kg / día<sup>38</sup>. Las descritas son esclerosis metafisarias múltiples y simétricas, disminución de la altura de los cuerpos vertebrales con imágenes de esclerosis transversa.

Nuestros pacientes no presentaron estos efectos adversos, ya que las dosis utilizadas fueron menores.

La endocrinopatía más frecuente en los pacientes estudiados fue el retardo puberal y el hipogonadismo hipogonadotrófico (35.7%) al igual que en otras series<sup>33</sup> siguiendo la alteración en el eje GH / IGF-I en el 12.5% (4 pacientes). Esta deficiencia es muy variable en las diferentes series reportadas, siendo claramente más alta en los pacientes que tienen displasia ósea<sup>39</sup>. Uno de los pacientes tenía un cuadro compatible con resistencia parcial a la hormona de crecimiento. El mecanismo de esta resistencia no está claro aún<sup>40</sup> y no radica aparentemente en la producción de IGF-I<sup>41</sup>.

El tratamiento convencional, para aquellos pacientes que carecen de un donante adecuado para TACPH, contribuye a aumentar la sobrevida, reducir considerablemente las anomalías faciales y las alteraciones del crecimiento, favorecer el desarrollo psicológico normal y la inserción en la sociedad con una calidad de vida aceptable.

En la población estudiada se observó que el inicio tardío del régimen transfusional y la dificultad para realizar el tratamiento quelante fueron, en parte, responsables de las alteraciones antropométricas y endocrinológicas encontradas. Si bien la calidad y la expectativa de vida para los pacientes con  $\beta$ TM han mejorado significativamente en los últimos 20 años<sup>42, 43</sup>, y considerando que la enfermedad no tiene en la Argentina el mismo impacto que en otros países, es indispensable desarrollar no sólo un programa para la prevención y diagnóstico precoz de la enfermedad, sino también asegurar la continuidad del tratamiento estandarizado, iniciado en la edad pediátrica, en hospitales generales de adultos<sup>43</sup>.

## Bibliografía

- Weatherall DJ, Clegg JB. The thalassemia syndromes. 3rd ed. Oxford; Blackwell Scientific Publications: 1981; 133-47.
- Orkin S, Nathan D. The Thalassemias. In: Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Saunders 1998; 811-86.
- Cooley TB, Lee P. A series of cases of splenomegaly in children with anemia and peculiar bone changes. *Trans Am Pediatr Soc* 1925; 37: 29-30.
- Fosburg MT and Nathan DG. Treatment of Cooley's Anemia. *Blood* 1990; 76: 435-44.
- Prati D. Benefits and Complications of regular Blood Transfusion in Patients with Beta-Thalassemia major *Vox Sang* 2000; 79: 129-37.
- Propper RD, Shurin SB, Nahan DG. Reassessment of the use of deferoxamine B in iron overload. *N Engl J Med* 1976; 294:1421-3.
- Propper RD, Cooper B, Rufo RR. Continuous subcutaneous administration of deferoxamine in patients with iron overload. *N Engl J Med* 1976; 297: 418-23.
- Lucarelli G, Galimberti M, Polchi P, et al. Bone Marrow Transplantation in patients with Thalassemia. *N Engl J Med* 1990; 322: 417-21.
- International Committee for Standardization in Hematology. Recommendations of a system for identifying abnormal hemoglobins. *Blood* 1978; 52: 1065 -7.
- Huisman THJ, Schroeder WA, Brodie AR, Mayson SM, Jakway J. Microchromatography of hemoglobins III. A simplified procedure for the determination of hemoglobin A<sub>2</sub>. *J Lab Clin Med* 1975; 86: 700-2.
- Betke K, Marti HR, Schlicht I. Estimation of small percentages of fetal hemoglobin. *Nature* 1959; 184: 1877-8.
- Carrel R W, Kay R. A simple method for the detection of unstable hemoglobins. *Br J Haematol* 1972; 23: 615.
- Roldán A, Gutierrez M, Cygler A.M, Bonduel M; Sciuccati G, and Feliu Torres A. Molecular Characterization of  $\beta$ -Thalassemia Genes in an Argentine Population. *Am J Hematol* 1997; 54: 179-82.
- Craig JE, Barnetson RA, Prior J, Raven JL and Thein SL. Rapid Detection of Deletions Causing db Thalassemia and Hereditary Persistence of Fetal Hemoglobin by Enzymatic Amplification. *Blood* 1994; 83: 1673-82.
- The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus: Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification Of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 22 (Suppl.1): S1-S19, 1999.
- Lejarraga H, Anigstein C, Di Candia A, et al. Criterios de diagnóstico y tratamiento. Comité de crecimiento y desarrollo. Sociedad Argentina de Pediatría. 1994.
- Lejarraga H, Fano V, Adamo P. Normas y Técnicas antropométricas Criterios de atención. Hospital de Pediatría Prof. Dr. J. P. Garrahan 2000; 2: 215-7.
- Lejarraga H, Fano V, Adamo P. Estándares para la evaluación del crecimiento Criterios de atención Hospital de Pediatría Prof. Dr. J P Garrahan 2000; 2: 218-45.
- Lejarraga H, Orfila G. Estándares de peso y estatura para niñas y niños argentinos desde el nacimiento hasta la madurez. *Arch Argent Ped* 1987; 85: 209-22.
- Tanner JM, Physical development. In: Fortar and Arneil, Textbook of Pediatrics. London: Churchill Livingstone, 1973.
- Tanner JM, Whitehouse RH, Marshall WA et al. Assessment of skeletal maturity and prediction of adult height (TW2 Method) 2<sup>nd</sup> edition. London: Academy Press 1975.
- Amselem S, Nunes V, Vidaud M, et al. Determination of the Spectrum of  $\beta$ -Thalassemia genes in Spain by Use of Dot-Blot Analysis of Amplified  $\beta$ -globin DNA. *Am J Hum Genet* 1988; 43: 95-100.
- Lucarelli G, Galimberti M, Giardini C, et al. Bone Marrow Transplantation in Thalassemia: The experience of Pesaro. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 850: 270-5.
- Propper RD, Button LN, Nathan DG: New approaches to the transfusion management of thalassemia. *Blood* 1980; 55: 55-60.
- Piomelli S. The management of patients with Cooley's anemia: Transfusions and Splenectomy. *Semin Hematol*, 1995; 32: 262-8.
- Barry M, Flynn D, Letsky EA, Risdon RA. Long-term Chelation Therapy in Thalassemia Major: Effect on Liver Iron Concentration, Liver Histology, and Clinical Progress. *BMJ* 1974; 2:16-20.
- Propper RD, Shurin SB, Nathan DG. Reassessment of the use of desferrioxamine B in iron overload. *N Engl J Med* 1976; 294: 1421-3.
- Propper RD, Cooper B, Rufo RR, Nienhuis AW, Anderson WF, Bunn HF, Rosenthal A, Nathan DG. Continuous subcutaneous administration of desferrioxamine in patients with iron overload. *N Engl J Med*, 1977; 297: 418-23.
- Wonke B, Wright C, Hoffbrand V. Combined therapy with

- deferiprone and desferrioxamine. *Br J Haematol* 1998; 103: 361-4.
30. Breuer W, Emers MJ, Pootrakul P et al. Desferrioxamine-chelatable iron, a component of serum non-transferrin-bound iron, used for assessing chelation therapy. *Blood* 2001; 97: 792-8.
  31. Angelucci E, Muretto P, Lucarelli G et al. Phlebotomy to reduce iron overload in patients cures of thalassemia by bone marrow transplantation. *Blood* 1997; 90: 994-8.
  32. Giardini C, Galimberti M, Lucarelli G, et al. Desferoxamine therapy accelerates clearance of iron deposits after bone marrow transplantation *Br J Haematol* 1995, 89: 868.
  33. Caruso-Nicoletti M, Di Bella D, Pizzarelli C, Leonardi C, Sciuto M, Coco M and Di Gregorio F. Growth failure and bone lesions due to desferrioxamine in thalassaemic patients. *J Pediat Endocrinol Metab* 1998; 11: 957-60.
  34. Caruso-Nicoletti M, De Sanctis V, Capra M et al. Short Stature and Body Proportion in Thalassaemia. *J Pediat Endocrinol Metab* 1998; 11: 811-6.
  35. Jensen CE, Tuck SM, Agnew S et al. High Incidence of Osteoporosis in Thalassaemia Major. *J Pediat Endocrinol Metab* 1998; 11: 975-7.
  36. Lala R, Chiabotto P, Isaia GC et al. Bone Density and Metabolism in Thalassaemia. *J Pediat Endocrinol Metab* 1998; 11: 785 -90.
  37. Wonke B, Jensen C, Hanslip JJ, et al. Genetic and Acquired Predisposing Factors and Treatment of Osteoporosis in Thalassaemia. *J Pediat Endocrinol Metab* 1998; 11: 795-801.
  38. Naselli A, Vignolo M, Di Battista, et al. Long Term Follow-up of Skeletal Dysplasia in Thalassaemia Major. *J Pediat Endocrinol Metab* 1998; 11: 817- 25.
  39. De Sanctis V, Stea A, Savarino L et al. Growth Hormone Secretion and Bone Histomorphometric Study in Thalassaemic Patients with Acquired Skeletal Dysplasia Secondary to Desferrioxamine. *J Pediat Endocrinol Metab* 1998; 11: 827-33.
  40. Zachmann M, Kempken B and De Sanctis V. Acute Metabolic Effects of Human Growth Hormone on 15 N-Nitrogen Balance in Patients with Thalassaemia as Compared to Patients with Other Types of Short Stature. *J Pediat Endocrinol Metab* 1998; 11: 85-6.
  41. Merchav S, Graif Z, Skottner A. In-vitro response of erythroid progenitors from children with thalassaemia major to human growth hormone and insulin-like growth factor I. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1993; 39: 207-11.
  42. Olivieri NF, Brittenham GM. Iron chelation therapy and the treatment of thalassaemia. *Blood* 1997; 89: 739-61. [Erratum, *Blood* 1997; 89: 2621].
  43. Thalassaemia International Federation (TIF). Guidelines for the Clinical Management of Thalassaemia. April 2000 e-mail: thalassaemia@cytanet.com.cy.

-----

*For pure logic all axioms are arbitrary, including the axioms of ethics. But they are by no means arbitrary from a psychological and genetic point of view. They are derived from our inborn tendencies to avoid pain and annihilation, and from the accumulated emotional reaction of individuals to the behavior of their neighbors.*

Para la lógica pura todos los axiomas son arbitrarios, incluyendo los axiomas de la Ética. Pero desde un punto de vista psicológico y genético, no son en forma alguna arbitrarios. Ellos se derivan de nuestras tendencias innatas de evitar el dolor y la aniquilación, y de la reacción emocional acumulativa de los individuos respecto al comportamiento de sus vecinos.

Albert Einstein (1879-1955)

*Out of my later years*