



ARTÍCULOS ORIGINALES

ERITROCITOSIS PATOLÓGICA DE ALTURA: CARACTERIZACIÓN BIOLÓGICA, DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO.

HIGH ALTITUDE PATHOLOGICAL ERYTHROCYTOSIS: BIOLOGICAL CHARACTERIZATION, DIAGNOSIS AND TREATMENT.

Amaru Ricardo*, Miguez Hortencia, Peñaloza Rosario, Torres Gina, Vera Oscar, Jeaneth Velarde, Nelly Huarachi, Reyna Mamani, Cuevas Heriberto.

RECIBIDO: 02-07-2013

ACEPTADO: 07-08-2013

RESUMEN

Introducción. Los pobladores de grandes alturas se adaptaron de modo diferentes, siguiendo rutas distintas con el mismo objetivo de suministro de oxígeno y la supervivencia. En el presente trabajo se caracteriza la Eritrocitosis Patológica de Altura y se demuestra la eficacia de la atorvastatina en el tratamiento.

Material y métodos. Se estudiaron: Sujetos varones como Controles Normales (CN), y pacientes con Eritrocitosis Patológica de Altura (EPA), Eritrocitosis Secundaria (ES) y Policitemia Vera (PV). Se realizaron estudios de laboratorio y de biología molecular. Se realizó estudio clínico de fase 2 con atorvastatina.

Resultados. La EPA presenta: eritropoyetina normal, apoptosis retardada de progenitores eritroides, crecimiento autónomo de BFU-E e hipersensibilidad a la eritropoyetina. La atorvastatina como tratamiento en pacientes con EPA disminuye la concentración de hemoglobina y remite la sintomatología de la hiperviscosidad sanguínea.

Conclusiones. La EPA tiene características propias que la distinguen de otras eritrocitosis patológicas y la atorvastatina se constituye en tratamiento eficaz.

Palabras claves: Eritrocitosis Patológica de Altura, Enfermedad crónica de altura, Estatinas

ABSTRACT

Introduction. The residents of high altitude get use to it in different ways, following the same purpose in order to supply oxygen and survival. In the present paper, we characterize the High Altitude Pathological Erythrocytosis disease and demonstrate the effectiveness of atorvastatin in its treatment.

Material and methods. We studied male subjects as normal controls (CN), and patients with High Altitude Pathological Erythrocytosis (EPA), Secondary Erythrocytosis (ES) and Polycythemia Vera (PV). Laboratory and molecular biology studies were conducted. We developed in the study of 2nd phase with atorvastatin.

* Unidad de Biología Celular, Departamento de Ciencias Funcionales, Facultad de Medicina, Universidad Mayor de San Andrés, La Paz, Bolivia.
Centro de Oncohematología Paolo Belli, La Paz, Bolivia

Correspondencia: Ricardo Amaru MD, PD, ACAD: amaru.ricardo@icloud.com

Results. The EPA presents: normal erythropoietin, delayed erythroid progenitors apoptosis, autonomous growth of BFU-E and hypersensitivity to erythropoietin. The atorvastatin in patient with EPA, decreased hemoglobin concentration and eliminates the symptomatology of blood hyperviscosity

Conclusions. The EPA has characteristics that distinguish it from other pathologic erythrocytosis and atorvastatin becomes an effective treatment.

Keywords: High Altitude Pathological Erythrocytosis, Chronic Mountain Sickness, Statins.

INTRODUCCIÓN

La tierra, desde su formación, ha estado marcada por acontecimientos importantes, como la formación de la montaña Himalaya (Tíbet) entre 245 a 65 millones de años y la formación de la Cordillera de Los Andes entre 138 a 65 millones de años^{1,2}. Las poblaciones nativas del Tíbet y Los Andes colonizaron las montañas de Tíbet y Los Andes desde hace 25.000 y 11.000 años atrás, respectivamente³. La baja presión de oxígeno en grandes alturas en las que vivieron ambas poblaciones permitió la selección natural y adaptación genética⁴ de modo diferentes como resultado de procesos evolutivos y tiempo de exposición distintos. Los Tibetanos montañoses evolucionaron hacia una concentración de hemoglobina similar a los habitantes del nivel del mar, gracias a la adaptación y selección positiva de un grupo de genes involucrados en la eritropoyesis; mientras que los Andinos evolucionaron a hemoglobina elevada en relación a los habitantes del nivel del mar. Además, los nativos Tibetanos y Andinos presentan una baja concentración de hemoglobina en relación a los nativos de tierras bajas que migraron recientemente a grandes alturas^{5,6,7,8,9,10}.

La eritrocitosis es el aumento de la masa de eritrocitos por encima de los parámetros normales. Las principales eritrocitosis patológicas son: Policitemia Vera (PV), Eritrocitosis Secundaria (ES), Eritrocitosis Familiar (EF) e Eritrocitosis Patológica de Altura (EPA). La PV es una enfermedad oncohematológica clonal¹¹ asociada a leucocitosis, trombocitosis¹², crecimiento autónomo de colonias eritroides (BFU-E), eritropoyetina sérica baja^{13,14} y la mutación de gen JAK2 V617F

^{15,16,17,18} propio de las enfermedades mieloproliferativas^{19,20,21,22,23}. La ES representa la consecuencia de patologías asociadas a aumento de la eritropoyetina sérica como las patologías cardiopulmonares^{24,25,26,27}. La EF es genético y se caracteriza por la mutación de genes involucrados en la eritropoyesis^{28,29}. La EPA es la manifestación hematológica de la enfermedad crónica de altura, presente en nativos o residentes en alturas por encima de 2500 msnm^{30,31,32,33} probablemente de etiología multifactorial^{34,35,36,37,38} y la inadecuada adaptación a las grandes alturas; la incidencia en la ciudad de La Paz a 3.600 msnm es de 5 a 7%^{39,40}. Para el tratamiento de la EPA se ha recurrido a medidas terapéuticas como la flebotomía⁴¹, el uso de Medroxiprogesterona⁴², Acetazolamida⁴³, Almitrina⁴⁴, teofilina^{45,46} y enalapril⁴⁷. Por diferentes factores y por presencia de eventos adversos actualmente no son utilizados como medicamentos de primera línea.

MATERIAL Y MÉTODOS

Pacientes

Para el estudio clínico se estudiaron 15 sujetos varones como Controles Normales (CN), 17 varones con EPA, 51 varones con ES y 8 pacientes con PV. Para estudio biomolecular se estudiaron 10 CN, 10 EPA, 10 ES y 5 PV. Para el estudio clínico con atorvastatina se estudiaron 22 EPA con radicatoria en las ciudades de La Paz y El Alto a 3600 y 4000 msnm respectivamente. Las muestras de aspirado de médula ósea y sangre venosa periférica fueron tomadas previo consentimiento informado, y los datos clínicos se obtuvieron de la historia clínica. El seguimiento de los pacientes fue realizado mensualmente

por consultorio externo. El diagnóstico de eventos tromboticos fue confirmado con Eco doppler y Tomografía axial computarizada.

Análisis de laboratorio

La concentración de hemoglobina, hematocrito, leucocitos y plaquetas fueron realizados en sangre venosa periférica obtenida en tubos con EDTA (Becton Dickinson, USA) y procesados en un contador hematológico automático (Micro 60, USA). La hemoglobina fetal se determinó por método fotocolorimétrico, con el Kit Emoglobina Fetal Kit (Globe Diagnostic, Italy) en un espectrofotómetro (Unico 1200, USA) y la methemoglobina fue estudiada con el método de Evelyn y Malloy. Los reticulocitos se evaluaron por microscopia mediante tinción azul brillante de cresil. La dosificación de eritropoyetina sérica, se realizó en sangre venosa periférica obtenida en tubos Vacutainer SST II Advance (Becton Dickinson, Plymouth, UK) con el método de ELISA, utilizando Kit comercial (R&D System, USA) y un lector Stat Fax 2100 (Awarenes Inc. Technologies, USA). La gasometría arterial se realizó en gasómetro automatizado (Critical Care Xpress, Nova Biomedical).

Aislamiento de células progenitoras hematopoyéticas (CPH)

Las CPH de la médula ósea fueron separadas con centrifugación por gradiente de densidad Histopaque 1077 (Sigma-Aldrich, USA), luego lavadas con tampón de lisis y RPMI1640 con suero fetal bovino 2%, e identificadas por citometría de flujo con anti CD34, y la viabilidad se estudió con Azul Tripan.

Análisis de Inmunofenotipo por Citometría de Flujo

Las muestras fueron tomadas en tubos Trucount de poliestireno (Becton Dickinson, USA) y marcados con anticuerpos CD34, CD45 y Gly-A (Becton Dickinson, USA). La evaluación se efectuó en Citómetro de flujo FASCAN (Becton Dickinson, USA) y fueron

evaluados con los programas Multiset y Cell Quest Pro (Becton Dickinson-USA).

Análisis de la mutación del gen Jak-2 V617F

El DNA de células mononucleares de la médula ósea fue extraído con método fenol/cloroformo. Se utilizó 100 ng de DNA, 50 pM de los oligos JAK2R (5'CTGAATAGTCCTACAGTGTTTTCA GTTTCA^{3'}), JAK2F (5'AGCATTGGTTT TAAATTATGGAGTATATT^{3'}) y JAK2FWT (5'ATCTATAGTCATGCTGAAAGTAGGAG AAAG^{3'}). El annealing se realizó a 59°C por 35 ciclos. El producto del PCR fue separado en gel de agarosa al 2%. La banda de 364 bp representa el exon 12 del gen Jak2 y la banda 203 bp la mutación Jak2 V617F.

Cultivo de CPH en medio semisólido

Se cultivó 2x10⁵cel/ml de CPH en cajas petri de 33 mm con grilla de acuerdo al siguiente protocolo: 1 ml de Metilcelulosa (Metho Cult H4230 Without Epo, stemCell Technologies, Canada), penicilina 250 UI/ml, estreptomycin 50ug/ml, simvastatina 300ng/ml y Epo 2UI/ml (los controles sin Epo ni simvastatina). El cultivo fue realizado a 37°C y 5% CO₂. La lectura de las colonias BFU-E se realizó de acuerdo a criterios estandarizados a los 7 y 14 días ⁴⁸.

Cultivo de CPH en medio líquido

Los cultivos de CPH se realizaron en placas de poliestireno de 12 y 24 pocillos (Cellstar greiner Bio-one USA) en RPMI 1640 con suero fetal bovino 10%, L-glutamina 2mM, estreptomycin 50Ug/ml, penicilina 50UI/ml, neomicina 1000Ug/ml, rHuEpo 3 UI/ml (Hemax, SIDUS) y simvastatina 10UM (Merk Sharp Dohm, France). Se cultivaron 1x10⁶ cel/ml a 37°C al 5% de CO₂ durante 5 días en una estufa de CO₂ (Binder GMBH, Germany).

Dosis respuesta de CPH a la eritropoyetina

Se cultivaron 2x10⁵cel/ml en metilcelulosa (MethoCult 4531

medium, StemCell Technologies Inc, Vancouver, Canada) con penicilina 250 UI/ml, estreptomina 50ug/ml, en cajas Petri de 35 mm en presencia de eritropoyetina a las siguientes concentraciones: 0; 0.03; 0.06; 0,125; 0.250 y 2 U/ml. El cultivo fue realizado a 37°C ,5% de CO₂ hasta el día 14. La lectura de BFU-E se realizó de acuerdo a criterios estandarizados.

Determinación de apoptosis por citometría de flujo.

La apoptosis celular se determinó mediante el Kit de Apoptosis (Becton Dickinson, Pharmigen, USA) con anti-CD235a, Anexina V-PE y 7AAD. La evaluación se realizó por citometría de flujo con FACScan (Becton Dickinson, USA) y el software Cell Quest Pro 4.0 (Becton Dickinson, USA).

Determinación de apoptosis por Cultivo en medio semisólido

Se cultivó 2×10⁵ cel/ml en cajas petri de 33 mm con grilla y en 1 ml de Metilcelulosa (Metho Cult H4230 Without Epo, stemCell Technologies, Canada) suplementado con penicilina 250 UI/ml, estreptomina 50ug/ml, simvastatina 300ng/ml y Epo 2UI/ml. El cultivo fue realizado a 37°C, 5% de CO₂. La lectura de las colonias BFU-E se realizó a los 7,14 y 21 días ⁴⁸.

Determinación de apoptosis por DNA laedder

Se cultivaron 5×10⁶ cel/ml de células mononucleares en 700ml RPMI-1640, 300 ml suero fetal bovino, L-Glutamina 2nM, Penicilina 250UI, estreptomina 50mg y rHEpo 2UI/ml. El cultivo se realizó en placas CCW (Corning Cell Well) a 37°C, 5% de CO₂. Fueron cultivadas durante 1, 2, 7 y 14 días, luego lavadas con PBS y lisados en solución guanidino y proteínasa K. Posteriormente fueron incubados a 58°C por 60 min y separados por electroforésis en gel de agarosa al 2%. El patrón de DNA fue visualizado y fotografiado bajo luz ultravioleta.

Tratamiento de pacientes con Eritrocitosis Patológica de Altura

Veinti y dos pacientes con EPA asociados a hipercolesterolemia recibieron 20 mg de Atorvastatina por vía oral a horas 21:00 cada día. La duración del tratamiento fue por más de un año y la evaluación se realizó a los 12 meses de estudio. Se determinó suspender el tratamiento en presencia de eventos adversos, intolerancia a la atorvastatina y/o solicitud del paciente. Los tratamientos concomitantes prohibidos fueron la Eritropoyetina, Estrógenos, Andrógenos y Corticoides. Previo inicio de tratamiento se realizó sangría de 450 ml semanales hasta alcanzar hemoglobina inferior a 18 g/dl. Se tomaron las siguientes medidas para valorar el cumplimiento del tratamiento: visita médica mensual, entrevista, confirmación y llamadas telefónicas. Se tomaron los siguientes criterios para la valoración de respuesta a la Atorvastatina:

- Respuesta Completa: hemoglobina ≤17.5 g/dl, remisión de signosintomatología y sin requerimiento de flebotomias.
- Respuesta Parcial: hemoglobina 17.5 a 19 g/dl, presencia de uno o más signosintomatologías y con requerimiento de sangrías.
- Respuesta Ausente: hemoglobina superior a 19 g/dl, presencia de uno o más y con requerimiento de sangrías.

RESULTADOS

Características clínicas

Las características clínicas de los pacientes estudiados esta detallado en el Cuadro N° 1.

El motivo de consulta de los pacientes con eritrocitosis patológica (EPA, ES, PV) fue el síndrome de hiperviscosidad sanguínea caracterizado por: cefalea, parestesias, tinnitus, hipersomnia y disnea, además de la cianosis distal. Los pacientes con ES presentaron

Cuadro N° 1
Características clínicas de pacientes con eritrocitosis patológicas y controles normales al momento del diagnóstico.

	CN	EPA	ES	PV
Número de pacientes	15	17	51	8
Sexo Masculino/ Femenino	15/0	17/0	51/0	6/2
Edad, años (mediana y rangos)	36.5 (28-46)	49.3 (43-71)	51.2(36-76)	61 (56-73)
Cefalea, n (%)	NA	17 (100%)	51 (100%)	8(100%)
Parestesias, n (%)	NA	17 (100%)	51 (100%)	5(62%)
Tinnitus, n (%)	NA	9 (53%)	24 (47%)	3 (50%)
Hipersomnia, n (%)	NA	8 (47%)	24 (47%)	1 (12%)
Disnea, n (%)	NA	17 (100%)	51 (100%)	8(100%)
Cianosis, n (%)	NA	17 (100%)	51 (100%)	8(100%)
Evento tromبótico, n (%)	0	0	6 (11.3%)	2 (25%)
HAS n (%)	0	2 (11,85)	25 (49%)	1(12,5%)

CN: controles normales, **EPA:** eritrocitosis patológica de altura, **ES:** eritrocitosis secundaria, **PV:** policitemia vera. El estudio fue realizado con sujetos masculinos para eliminar el confundente género, por la acción inhibitoria de la eritropoyesis de las hormonas femeninas.

signos pulmonares evidentes de patología orgánica y los pacientes con PV presentaron leucocitosis, trombocitosis y esplenomegalia.

La historia de evento tromبótico fue del 11.3% en ES y 25% en PV. El evento tromбótico en ES estuvo asociado a obesidad y dislipidemia (Cuadro N° 2).

Cuadro N° 2
Pacientes con Eritrocitosis Secundaria que presentaron eventos tromбóticos.

Diagnóstico	Edad	Comorbilidad	Hb (g/dl)	P/A diagnóstico	Trombosis
PV	60 años	No	23,5	130/88	Vena porta
PV	73 años	DM, HAS	18,7	150/120	TVP
ES	68 años	Obesidad, varices	19,1	105/90	TVP
ES	38 años	Obesidad, varices	22,9	125/90	TVP
ES	64 años	Obesidad	21,3	114/80	Mesenterio
ES	71 años	Dislipidemia	19,0	110/80	Vena porta
ES	43 años	Obesidad	18,8	110/80	TEP
ES	38 años	Obesidad, HAS	22,9	126/90	TVP

*PV:*Policitemia Vera, *ES:*Eritrocitosis Secundaria, *DM:* Diabetes Mellitus, *HAS:* Hipertensión Arterial Sistémica, *TVP:*Trombosis Venosa Profunda, *TEP:*Tromboembolia Pulmonar.

Al diagnóstico presentaron Hipertensión Arterial sistémica (HAS) 11.8% de pacientes con EPA, 49% con ES y 12% con PV. Posterior a sangría hasta alcanzar valores menores de 18 g/dl, la HAS se normalizó en pacientes con EPA y PV; mientras el 11.5% de pacientes con

ES continuaban con HAS, estos últimos estaban asociados a obesidad.

Características laboratoriales

Las características laboratoriales de los pacientes estudiados están detallados en el cuadro N° 3.

Cuadro N° 3
Características laboratoriales de sujetos normales y eritrocitosis patológicas.

	CN (n=10)	EPA (n=10)	ES (n=10)	PV (n=5)
Hemoglobina g/dl (DS)	15,9 (+0,6)	20,2 (+0,8)	22,9 (+1,1)	20,3 (+2.5)
Hb fetal % (mediana y rangos)	0,46 (0,27-0,55)	0,57 (0,36-0,72)	0,76 (0,31-1,24)	0,44 (0,28-0,84)
MethHb % (mediana y rangos)	0,63 (0,98-0,40)	0,43 (0,24-2,35)	0,34 (0,28-0,99)	0,29 (0,11-0,82)
Hematocrito % (DS)	50,5 (+2,7)	62,1 (+3,7)	70,7 (+3,7)	63,4 (+5.9)
Índice de reticulocitos % (DS)	1,3(+0,3)	2,9 (+1,3)	3,6 (+1,2)	2,1 (+0.3)
Leucocitos x103/μL (DS)	6,3 (+1.6)	7,2 (+1,9)	6,6(+1,7)	16,6 (+4,8)
Plaquetas x103/μL (DS)	273 (+80)	229 (+58)	193 (+54)	604(+177)
Eritropoyetina sérica mU/ml (DS)	10,0 (+1,7)	10,5 (+1,1)	30,5 (+2,8)	2,1 (+0,6)
pH	7,39 (+0,01)	7,41 (+0,02)	7,39 (+0,02)	7,42
pCO2 (mmHg)	30 (+0,1)	34,1 (+3,3)	37,8 (+3,5)	27,5
pO2 (mmHg)	60.2 (+0.4)	49,9 (+4,3)	43,4(+1,6)	48,3
Sat O2 (%)	93.2 (+1.6)	86,1(+3,8)	78,3(+2,7)	91
Mutación Jak2 V617F	0/10	0/10	0/10	5/5
BFU-E autónomos, No (rangos)	0	11 (2-25)	0	46 (25-70)
Hipersensibilidad a Epo	0/3	3/3	0/3	3/3
Apoptosis celular	Normal	Retardada	Normal	Retardad

Los pacientes con EPA tienen la hemoglobina y hematocrito estadísticamente diferente de los pacientes con ES, PV y CN; mientras que, el índice de reticulocitos son similares a los pacientes con ES y PV y estadísticamente diferentes de los CN. La concentración de hemoglobina fetal y metahemoglobina en pacientes con EPA, ES y PV son normales.

La cantidad de leucocitos y plaquetas son similares en CN, EPA y ES; mientras que los pacientes con PV presenta leucocitosis y trombocitosis.

La concentración de eritropoyetina sérica es normal en el grupo EPA, elevada en ES y disminuida en PV.

El pH de los cuatro grupos (SN, EPA, ES y PV) son normales; pero, la pCO₂, pO₂ y la saturación de O₂ de los pacientes con EPA son estadísticamente diferentes de los pacientes con ES y CN.

La mutación de JAK2 V617F esta presente en todo los pacientes con PV y ausente en EPA, ES y CN (fig 1).

Figura N° 1
Mutación del gen JAK2 V617F en pacientes con eritrocitosis patológicas y controles normales

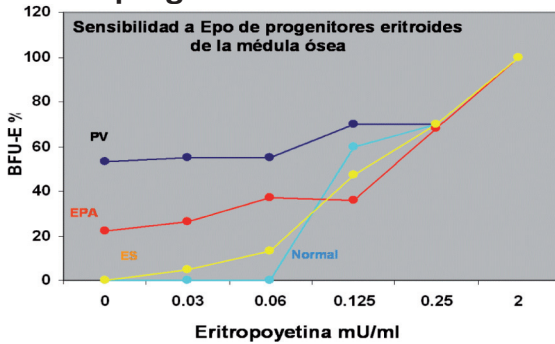


Electroforesis de producto de PCR en gel de agarosa al 2%. Las muestras del control, Eritrocitosis Patológica de Altura y Eritrocitosis secundaria no presentan mutación del gen JAK2 V617F. La muestra de la policitemia presenta mutación del gen JAK2 V617F.

El crecimiento autónomo de colonias eritrocitarias BFU-E, sin presencia de eritropoyetina, estuvo presente en EPA; pero, no en la misma intensidad y cantidad que los pacientes con PV, cuya característica es el BFU-E autónomo.

Los progenitores eritroides de pacientes con EPA en medio de cultivo celular metilcelulosa presentan hipersensibilidad a bajas concentraciones de eritropoyetina (Fig. 2).

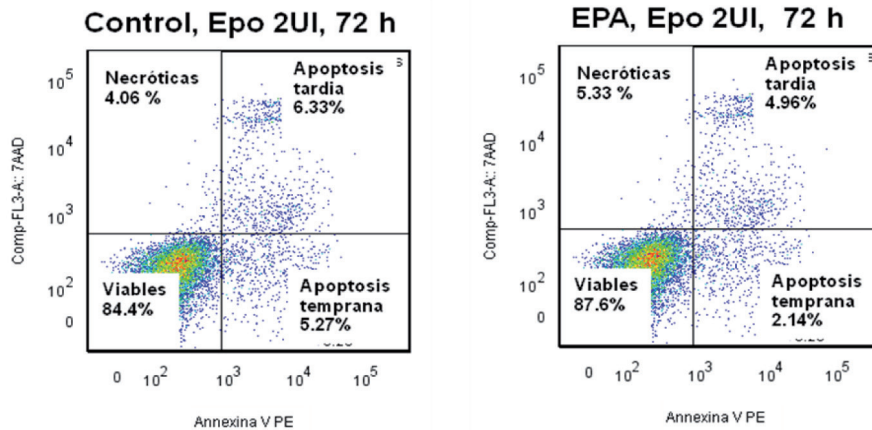
Figura N° 2
Sensibilidad a eritropoyetina de progenitores eritroides



Crecimiento de BFU-E en ausencia de eritropoyetina y concentraciones bajas de eritropoyetina de progenitores eritroides en medio de metilcelulosa.

Las pruebas de apoptosis y necrosis realizados en cultivos celulares en medio líquido, medio semisólido y por degradación de DNA demuestran que los progenitores eritroides de pacientes con EPA presentan apoptosis retardada en relación a los progenitores eritroides de sujetos normales (fig 3).

Figura N° 3
Apoptosis y necrosis de progenitores eritroides de pacientes con Eritrocitosis Patológica de altura.

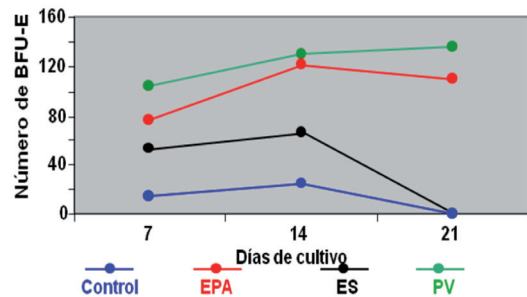


Dot Blot de apoptosis y necrosis de progenitores eritroides de sujetos normales y pacientes con EPA. La viabilidad celular se determinó por la expresión de Anexina-V y 7AAD de la siguiente manera: células viables: Anexina V negativo y 7AAD negativo, células apoptóticas tempranas: Anexina V positivo y 7AAD negativo, células apoptóticas tardías: Anexina V positivo y 7AAD positivo, células necróticas: Anexina V negativo y 7AAD positivo.

Acción "in vitro" de las estatinas sobre la eritropoyesis.

Las estatinas, en modelos celulares, inducen apoptosis de progenitores eritroides e inhiben la proliferación y diferenciación de Unidades Formadoras de Colonias Eritrocitarias (BFU-E) de pacientes con EPA, ES, PV y CN (fig 4).

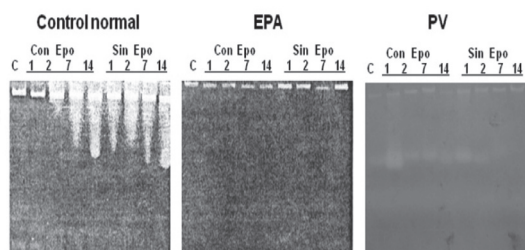
Figura N° 4
Acción de las estatinas en la inducción de apoptosis de progenitores eritroides e inhibición de la proliferación de BFU-E.



El estudio de la apoptosis en medio semisólido (metilcelulosa) fue realizado por citometría de flujo.

La acción de las estatinas in vitro, en medio de cultivo celular líquido inhibe el factor de trascrición STAT-5 (fig 5).

Figura N° 5
Inhibición de la transcripción de STAT-5



Apoptosis por fragmentación del DNA en controles normales, pacientes con EPA y PV.

Acción “in vivo” de las estatinas sobre la eritropoyesis.

Los pacientes con EPA tratados con 20 mg día de atorvastatina, 64% alcanzaron remisión completa, 27% remisión parcial y 9% no respondió al tratamiento (cuadro N° 4).

El estudio se realizó en 10 pacientes con EPA asociados a hipercolesterolemia, recibieron 20 mg de Atorvastatina por vía oral cada 24 horas. La evaluación se realizó a los 12 meses. Previo inicio de tratamiento se realizó sangría de 450 ml semanales hasta alcanzar hemoglobina inferior a 18 g/dl. Se siguieron 22

pacientes con eritrocitosis patológica de altura que recibieron atorvastatina 20 mg VO día durante 12 meses; se observaron datos hematológicos y sintomatología del síndrome de hiperviscosidad.

Diagnostico diferencial de las eritrocitosis patológicas.

Con los datos obtenidos es posible el diagnóstico diferencial entre las eritrocitosis patológicas más frecuentes (cuadro N° 5).

DISCUSIÓN

La Eritrocitosis Patológica de Altura (EPA) es la manifestación hematológica de la Enfermedad Crónica de Altura (enfermedad de Monge), caracterizado por el aumento de número de eritrocitos, hemoglobinas y hematocrito, que se manifiesta clínicamente por el síndrome de hiperviscosidad sanguínea y cianosis. Es un cuadro clínico por adaptación inadecuada a grandes alturas y probablemente por falta de adaptación de un grupo de genes comprometidos en la eritropoyesis.

Los valores de la concentración de hemoglobina en condiciones normales y

Cuadro N° 4
Evaluación de pacientes con EPA tratados con atorvastatina, en la fase II

Respuesta	Número pacientes	Edad años	Hb Pre Tx g/dl	Hb Post tx g/dl	Remisión Síntomas	Sangrías sesiones
Completa 64 %	14	59.2	19.7	16.8	Si	0
Parcial 27 %	6	58.3	20.5	16.9	Si	2.5
Ausente 9 %	2	47.5	21.8	19.9	No	7
Total pacientes	22	55.6	20.0	17.0	SI	1.3

Cuadro N° 5
Diagnóstico diferencial de las eritrocitosis patológicas

	CN	EPA	ES	PV
Síndrome de hiperviscosidad	No	Si	Si	Si
Epoc, obesidad, tabaquismo	No	No	Si	No
Evento trombótico	No	No	Si	Si
Esplenomegalia	No	No	No	Si
Eritropoyetina sérica	Normal	Normal	Alta	Baja
Mutación de Jak-2 V617F	No	No	No	Si

CN: control Normal, EPA: Eritrocitosis Patológica de Altura, ES: Eritrocitosis secundaria, PV: Policitemia Vera.

patológicas dependen de la edad, altura de residencia y sexo ^{49,50,51}; los valores normales para los habitantes adultos de las ciudades de La Paz y El Alto son: de 14 a 17 g/dl para mujeres y de 15 a 18 g/dl para varones. En el presente estudio se consideró eritrocitosis hemoglobina mayor a 18 g/dl para las mujeres y mayor a 19 g/dl para los varones; por encima de estos valores más del 80% de mujeres y varones presentan sintomatología de hiperviscosidad sanguínea. Pero es importante mencionar que existen pacientes de ambos sexos que toleran sin sintomatología hemoglobinas elevadas y a la inversa hay pacientes, sobre todo mujeres, que presentan sintomatología de hiperviscosidad a valores inferiores al del cut off.

La incidencia de la EPA no está determinada, por falta de criterios de diagnóstico diferencial entre la EPA, ES y la PV. Sin embargo varios autores han citado la incidencia de 5 al 10% ^{51,52,53} en regiones por encima de 2500 msnm; pero, probablemente la EPA sea menos frecuente. La ES es la mas frecuentes de todas las eritrocitosis patológicas, que en la altura se manifiesta con más sensibilidad; por ejemplo pacientes con daño pulmonar leve, en la altura presentan eritrocitosis, mientras que este mismo paciente a nivel del mar probablemente no presente la eritrocitosis. Se presenta generalmente en varones en edad adulta y mujeres post menopaúsicas, que fue adecuadamente descrito desde el punto de vista fisiopatológico ^{54,55,56}. De acuerdo a nuestras primeras observaciones, de todas la eritrocitosis patológicas, 90% son ES, 9% EPA y 1% corresponde a PV.

La EPA se manifiesta por la sintomatología del síndrome de hiperviscosidad sanguínea caracterizada por cefalea, disnea, parestesias, hipersomnia y tinnitus ^{57,58}, asociado a cianosis periférica. En nuestro estudio todos los pacientes con eritrocitosis patológica (EPA, ES, PV) presentan síndrome de hiperviscosidad sanguínea y cianosis; cuando la eritrocitosis se asocia a

hipertensión arterial sistémica secundaria a hipervolemia se observa epistaxis. Los pacientes con EPA seguidos por más de 3 años, no presentaron eventos tromboticos, probablemente la eritrocitosis aislada no es un factor de riesgo para eventos tromboticos; es raro los eventos tromboticos en eritrocitosis no neoplásicos ^{59,60} y en eritrocitosis inducida en modelos animales⁶¹. La ES asociada a síndrome metabólico tienen probabilidad alta de presentar evento trombotico y la PV tiene una alta probabilidad de presentar evento trombotico por la presencia de factores procoagulantes propios de enfermedad neoplásica ^{62,63,64,65}.

La hemoglobina y hematocrito de los pacientes con EPA, ES y PV están elevadas y los valores de EPA son estadísticamente diferentes de ES y PV, probablemente porque la etiología de cada uno de estas entidades clínicas son diferentes ^{66,67,68}. El índice de reticulocitos es similar en la ES, EPA y PV como manifestación de patologías que tienen en común el aumento de la eritropoyesis. La EPA y la ES no presentan alteraciones en otras líneas hematopoyéticas, como ocurre en la PV que está asociada a leucocitosis y trombocitosis ^{69,70}; lo que hace suponer que la EPA y ES tienen alteraciones en la línea eritroide exclusivamente.

La concentración de eritropoyetina sérica de los pacientes con EPA está dentro de los rangos normales, es estadísticamente diferente de los pacientes con ES donde se halla elevada ^{71,72} y PV cuya concentración esta muy disminuida^{67,70}.

La EPA presenta hipercapnia e hipoxemia leve que puede ser manifestación del aumento de la viscosidad sanguínea, como sucede en los pacientes con PV ^{72,73}. La EPA y ES no presentan la mutación de JAK-2 V617F, y es positiva en todo los casos de PV ^{74,75}. El crecimiento autónomo de las BFU-E es característica de la PV como manifestación de enfermedad clonal ^{76,77,78,79}, mientras que el crecimiento

autónomo en pacientes con EPA podría entenderse como hipersensibilidad a la eritropoyetina por parte de los progenitores eritroides. La EPA presenta apoptosis retardada, probablemente el gen Bcl-xL, responsable de la acción antiapoptótica de la serie eritroide, este involucrado^{80,81,82}.

El diagnóstico diferencial de la EPA con otras eritrocitosis patológica se caracteriza por la diferencia de concentración de Hemoglobina, leucocitosis, trombocitosis, concentración de eritropoyetina, ausencia de mutación del JAK-2V617F, crecimiento autónomo de los progenitores eritroides y la esplenomegalia (ver cuadro 5).

La etiología de la EPA pareciera ser de naturaleza genética. Los genes involucrados en la eritropoyesis en la altura estarían en vías de adaptación. Los principales genes comprometidos en la adaptación son: HIF-2 α , Citocromo P450, EDNRA, ANGPTL4, CAMK2D, EGLN1, HMOX2, CYP17A1, PPARA y PTEN; si este grupo de genes se adaptan a la altura, la concentración de hemoglobina de las generaciones desciende; si no se adapta a la altura, la concentración de hemoglobina de las generaciones aumenta. Pareciera que el gen más importante en la adaptación a grandes alturas es el HIF-2 α (Factor Inducible a la Hipoxia 2 alfa) que desempeña un papel importante en la regulación de la eritropoyesis, y que junto al gen EGLN1 (un regulador del HIF), y PPARA (un objetivo transcripcional del HIF) están fuertemente asociados con la disminución de la concentración de la hemoglobina en Tibetano montañeses. Los portadores del alelo «Tíbet» de los HIF-2 α son capaces de mantener la suficiente oxigenación de los tejidos a gran altura sin la necesidad de aumento de eritrocitos. Las poblaciones andinas, probablemente a causa de su corta historia de residencia a grandes alturas no han desarrollado un mecanismo similar para disminuir la eritropoyesis; sin embargo las poblaciones andinas presentan eritrocitosis como

mecanismo de compensación a grandes alturas^{83,84,85}, probablemente por la hipersensibilidad a eritropoyetina y apoptosis retardada de los progenitores eritroides. La hipersensibilidad también se observa en pacientes con eritrocitosis familiar caracterizados por la mutaciones en el gen del EpoR^{86,87,88} en progenitores eritroides de pacientes con eritrocitosis post trasplante renal y en pacientes con policitemia vera. En pacientes con ES la sensibilidad a eritropoyetina es normal^{89,90}.

La EPA presenta como principales complicaciones la hipertensión arterial sistémica secundaria a hipervolemia y la hipertensión arterial pulmonar. El evento trombótico no constituye una complicación en pacientes con EPA, sin embargo en pacientes con ES asociado a síndrome metabólico (ES/SM) presentan como principales complicaciones el evento trombótico, hipertensión arterial sistémica e hipertensión arterial pulmonar. Además en un paciente con ES/SM se observó insuficiencia cardiaca congestiva que fue resuelto con sangría. Otra complicación observada fue el síndrome convulsivo en una paciente con Hb por encima de 24 g/dl. Las alteraciones de coagulación y hemostasia están actualmente en estudio^{91,92,93}.

El tratamiento de la EPA con atorvastatina, en las fases I y II, mostraron significativa reducción de la concentración de hemoglobina y la remisión de la sintomatología de la hiperviscosidad sanguínea. El 60 % de los pacientes tratados alcanzaron respuesta completa con una calidad de vida buena y performance status 0. Los pacientes con Respuesta Parcial, a pesar de tener hemoglobinas por encima de valores normales, retornaron a sus actividades cotidianas.

Para el tratamiento de pacientes con EPA (también válido para pacientes con ES) se propone el siguiente protocolo:

a) Sangrías semanales hasta alcanzar valores menores de 18 g/dl de Hemoglobina. Sangrías de 450 ml

en pacientes hemodinamicamente estables, minisangrías de 250 ml en pacientes con presiones arteriales bajas y pacientes mayores de 60 años, y microsangrías de 100 ml en pacientes con insuficiencia cardíaca y mayores de 70 años. Las reposiciones están contraindicadas en pacientes con hipertensión arterial sistémica; la reposición con solución fisiológica de 500 ml es solo recomendado para pacientes con presión arterial baja que presentan hipotensión posterior a sangrías.

b) Atorvastatina 20 mg VO día, horas 21:00. Durante el tratamiento monitorizar la CPK (Creatinfosfokinasa en sangre) y los efectos adversos de las estatinas.

c) Sangrías adicionales en los siguientes casos:

- Presencia de síndrome de hiperviscosidad sanguínea
- Hematocrito superior a 60% o hemoglobina superior a 19 g/dl.

Las estatinas son inhibidores de la hidroximetil glutaril Co enzima A reductasa, cuyo objetivo es la inhibición de la síntesis endógena del Colesterol; pero, además tiene acciones pleiotropicas que intervienen en la proliferación, diferenciación y apoptosis de las células^{94,95,96,97,98,99,100,101,102,103,104,105}. Esta propiedad propia de las atorvastatinas inhibe la eritropoyesis seguida de la disminución de la concentración de la hemoglobina, remisión de la sintomatología de la hiperviscosidad sanguínea, normalización de la presión arterial sistémica y probablemente reduce la hipertensión arterial pulmonar (datos no publicados).

REFERENCIAS

1. Joel Cracraft. «The Scientific Response to Creationism ». Department of Astronomy, University of Illinois. 1982. es.wikipedia.org/wiki/Historia_de_la_Tierra.
2. Futuyma, Douglas J. Evolution. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, 2005. ISBN0-87893-187-2. es.wikipedia.org/wiki/Historia_de_la_vida
3. Storz J. Genes for High Altitudes. *Science* 2010;329:40-41
4. Moore LG. Human genetic adaptation to high altitude. *High Alt Med Biol.* 2001;2:257-279.
5. Tatum S. Simonson. Genetic Evidence for High-Altitude Adaptation in Tibet. *Science* 2010; 329:72-75
6. Mark Aldenderfer. Peopling the Tibetan Plateau: Insights from Archaeology. *High Altitude Medicine & Biology.* 2011;12:141-147.
7. Simonson TS, McClain DA, Jorde LB, Prchal JT. Genetic determinants of Tibetan high-altitude adaptation. *Hum Genet.* 2012;131:527-33
8. Moore LG. Human genetic adaptation to high altitude. *High Alt Med Biol.* 2001:257-79.
9. Moore LG, Armaza F, Villena M, Vargas E. Comparative aspects of high-altitude adaptation in human populations. *Adv Exp Med Biol.* 2000;475:45-62.
10. Aparicio Octavio. Texto de Medicina de Altura. GMC Artes Gráficas, 2008.77-79
11. Adamson JW: Polycythemia vera: Stem-cell and probable clonal origin of the disease. *N Engl J Med* 1976;295:913
12. Spivak JL. Polycythemia vera: myths, mechanisms, and management. *Blood* 2002, 100:4272-4290.
13. Prchal JF. The in vitro response of normal and abnormal stem cell lines to erythropoietin. *J Clin Invest* 1978;61:1044
14. Eaves CJ: Erythropoietin dose-response curves for three classes of erythroid progenitors. *Blood* 1978;52:1196.
15. Jones A. Widespread occurrence of the JAK2 V617F mutation. *Blood* 106: 2162-2168.
16. Levine RL: Activating mutation in the tyrosine kinase JAK2 in polycythemia vera. *Cancer Cell* 2005;4:387
17. Kralovics R: A gain-of-function mutation of JAK2 in myeloproliferative disorders. *N Engl J Med* 2005;352:1779
18. Baxter EJ. Acquired mutation of the tyrosine kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet* 2005;365:1054

19. James C. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes PV. *Nature* 434:1144-1148.
20. Zaleskas V. *Molecular Pathogenesis and Therapy of Polycythemia Induced in Mice by JAK2*. *PLoS ONE*.2006 .
21. Finazzi G. Expertise-based management in essential thrombocythemia and PV. *Cancer J*. 2007;13:372-376.
22. Finazzi G. The treatment of polycythaemia vera: an update in the JAK2 era. *Intern Emerg Med*. 2007;2:13-18.
23. Bellucci S. The role of JAK2 V617F mutation. *Semin Thromb Hemost*. 2006;32:381-398.
24. Flenley DC: *Chronic obstructive pulmonary disease*. *Dis Mon* 1988;34:537
25. Limthongkul S: *Chronic obstructive pulmonary disease at Chulalongkorn Hospital*. *J Med Assoc Thai* 1991;74:639
26. Guidet B. *Polycythemia in chronic obstructive pulmonary disease*. *Chest* 1987;92:867-870
27. Villanueva-Gimenoa MM, Vicario-Bermúdeza JM. *Eritrocitosis secundaria a la producción inapropiada de eritropoyetina por un carcinoma de células renales*. *Semergen* 2012;454:1-3
28. Prchal J, Sokol L. *Familial polycythemia*. *Sciencie* 1995;1831-1832.
29. Melanie J Percy. *Familial erythrocytosis arising from a gain-of-function mutation in the HIF2A gene of the oxygen sensing pathway*. *Ulster Med J* 2008; 77 (2) 86-88
30. Gonzales GF. *Contribución Peruana a la hematología en poblaciones nativas de altura*. *Acta Andina* 1998; 7: 105
31. Leon-Velarde F: *Hematological parameters in high altitude residents living*. *High Alt Med Biol* 2000;1:97
32. León-Velarde F. *Consensus statement on chronic and subacute high altitude diseases*. *High Alt Med Biol*.2005;6:147-57.
33. Amaru R. *Novedoso tratamiento farmacológico de la eritrocitosis patológica de altura*. *Revista médica*, 2004;10:7
34. Moore LG. *Does chronic mountain sickness have perinatal origins?*. *Respir Physiol Neurobiol*.2007;158:180-189
35. Spicuzza L. *Sleep-related hypoxaemia and excessive erythrocytosis in Andean natives*. *Eur Respir J*. 2004;23:41
36. Kryger M. *Excessive polycythemia of high altitude*. *Am Rev Respir Dis*. 1978;118: 659
37. Amaru Ricardo. *Alteración en el patrón de apoptosis de células precursoras de eritrocitos*. *Cuaderno* 2000;46:31
38. León-Velarde F. *Respiratory control in residents at high altitude*. *High Alt Med Biol*.2006; 7:125-137.
39. Spielvogel Hilde, Paz Zamora M. Tufts D. *Comunicación rápida IBBA*. 1988.
40. Vargas E. *Excessive erythrocythemia and chronic mountain, studies from the IBBA*. *Project Alfa*.2005.74.1985.
41. Manier G. *Pulmonary gas exchange in Andean natives with excessive polycythemia*. *J Appl Physiol*.1988;65:2107-2117.
42. Kryger M. *Impaired oxygenation during sleep in excessive polycythemia of high altitude*. *Sleep*. 1978;1:3-17
43. Richalet JP. *Azetozolamide: a treatment for chronic mountain sickness*. *High alt Med Biol*. 2004;5:258.
44. Villena M. *Double-blind study on the action of almitrine in patients with polycythemia of high altitude*. *Bull Eur physiopathol Respir*. 1985;21:165-170.
45. Oren R, Berri M, Hubert A, Matzner Y. *Effect of Theophylline on erythrocytosis in chronic obstructive pulmonary disease*. *Archives of Internal Medicine* 1997;157:1474-1478
46. Romero R, Lens M. *Tratamiento de la poliglobulia post trasplante con teofilina*. *Nefrologia* 1992;12:174
47. Plata R. *Angiotensin-converting-enzyme inhibition therapy in altitude polycythaemia*. *Lancet*. 2002;359:663-666.
48. Montagna C, Eridani S. *In vitro sensitivity of human erythroid progenitors to hemopoietic rowth factors*. *Haematologica* 1994;79:311-318
49. Vargas E, Spielvogel H. *High altitude medicine & biology*. 2006;7:2
50. Brito J. *Chronic intermittent hypoxia at high altitude exposure for over 12 years*. *High Alt Med Biol*. 2007;8:236-244.
51. Spielvogel H, Paz Zamora M, Daigh A Tuts, Jere D, Haas L. *Sobre la incidencia de la eritrocitosis*

- en la población masculina de La Paz. *IBBA* 1988;2:17-27.
52. Vargas E, Villena M. Factores predominantes en la etiopatogenia de la enfermedad de Monge (EPA) en La Paz Bolivia. *IBBA*:263-282
 53. Galarza M, Rodrigo G. Comunicación de la segunda hemoglobina mutada en Bolivia, Hb Illimani. *Cuad Hosp Clin* 1991;37:28-33
 54. León-Velarde F. The role of menopause in the development of chronic mountain sickness. *Am J Physiol*.1997;272:90-94
 55. Arnaud J, Gutiérrez N, Tellez W, Vergnes H. Hematology and erythrocyte metabolism in man at high altitude: an Aymara -Quecchua comparison. *Am J Phys Anthropol* 1985;67:279-288.
 56. Aste-Salazar H, Krundieck CL. Diferenciación de hemoglobinas humanas en las grandes alturas. I. Hemoglobina fetal en recién nacidos y en adultos. *Ginecol & Obstet* 1971;17:79-102.
 57. Chetty KG: Exercise performance of polycythemic chronic obstructive pulmonary disease patients. *Chest* 1990;98:1073
 58. Queiroz LP, Rapoport AM. High-altitude headache. *Curr Pain Headache Rep.* 2007;11:293-296.
 59. Abdelrahman M. Post-transplant erythrocytosis. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 2004;15:433-439
 60. Finazzi G. Idiopathic erythrocytosis and other non-clonal polycythemia. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2006;19:471-482.
 61. Junpei S. Hemostasis and coagulation at a hematocrit level of 0.85. *Blood,* 2003;101: 4416-4422
 62. Tekin M. Development of acute coronary syndrome with thrombocythemia. *Turk Kardiyol Dern Ars.* 2008;36:35-38
 63. Bai J. The risk factors for thrombosis, myelofibrosis and leukemia in patients with PV. *Zhonghua.* 2007;28:685-688
 64. De Stefano V. Recurrent thrombosis in patients with PV. *Haematologica.* 2008;93:372-380
 65. Shpilberg O. Polycythemia vera. *Gruppo Italiano Studio Policitemia.* *Ann Intern Med.*1995;123:656-664.
 66. Johansson PL. An elevated venous haemoglobin cannot be used as a marker. *Br J Haematol.* 2005;129:701-705
 67. Mossuz P. Diagnostic value of serum Epo level in patients with erythrocytosis. *Haematologica,* 2004;89:1194-1198
 68. Andrew I. Molecular basis of the diagnosis and treatment of polycythemia vera. *Blood,* 2006;107: 4214-4222.
 69. Ranjan A, Penninga E, Jelsig AM, Hasselbalch HC, Bjerrum OW. Inheritance of the chronic myeloproliferative neoplasms A systematic review. *Clin Genet* 2012;10.1111/cge.12044.
 70. Tefferi A. Polycythemia vera and essential thrombocythemia: 2012 update on diagnosis, risk stratification, and management. *Am J Hematol* 2012;87:285-293.
 71. Gordeuk VR. Congenital polycythemia/erythrocytoses. *Haematologica.*2005;90:109-116.
 72. Gertz MA, Kyle RA. Hyperviscosity syndrome. *J Intensive Care Med.* 1995;10:128-141
 73. Tura S. Polycythemic hyperviscosity syndromes. *Ric Clin Lab.* 1983;13:105-114
 74. Baxter EJ. Acquired mutation of the JAK2 in human myeloproliferative disorders. *Lancet.* 2005;365:1054-1061.
 75. Levine RL. Role of JAK2 in the pathogenesis of myeloproliferative disorders. *Nat Rev Cancer.* 2007;7:673-683
 76. Eid J. Intracellular growth factors in polycythemia vera. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1987;84:532-536.
 77. Geissler K. IL-10 inhibits erythropoietin-independent growth of erythroid bursts. *Blood.* 1998;92:1967-1972.
 78. Wolf JT. The effects of IL-1 and IL-4 on the Epo-independent erythroid progenitor in PV. *Br J Haematol*1994;88:242-246
 79. Fisher M. Anti-EpoR distinguish EPO-dependent/EPO-independent erythroid progenitors in PV. *Blood*1994;84:1982-1991
 80. Rhodes MM. Bcl-xL prevents apoptosis of late-stage erythroblasts. *Blood.* 2005;106:1857-1863
 81. Dolznig H. Apoptosis protection by the Epo target Bcl-X(L). *Curr Biol.* 2002;12:1076-1085.
 82. Silva M. Erythropoietin can induce the expression of bcl-x(L) through Stat5. *J Biol Chem.* 1999;274:2165-2169
 83. Simonson T, Prchal J, Ge R. Genetic Evidence for High-Altitude Adaptation in Tibet. *Science* 2010 / Page 2 / 10.1126/science.1189406.
 84. Scortegagna M. The HIF family member EPAS1/HIF-2a is required for normal hematopoiesis in mice. *Blood* 2003; 1634-1640.

85. Yi X, Liang Y. Sequencing of 50 Human Exomes Reveals Adaptation to High Altitude. *Science* 2010; 329:75-78.
86. Sokol L. Primary familial polycythemia. *Blood*. 1995;86:15-22.
87. Arcasoy MO. Erythropoietin hypersensitivity in primary familial polycythemia. *Biochim Biophys Acta*. 2005;1740:17-28.
88. Forget BG. Familial polycythemia due to truncations of the Epo receptor. *Trans Am Clin Climatol Assoc*. 2000;111:38-44
89. Montagna C. In vitro sensitivity of human erythroid progenitors to hemapoietic growth factors. *Haematol*.1994;79:311-318
90. Dudley JM, Westwood N, Woodcock S, Eridani S. Sensitivity of erythroid progenitors to recombinant growth factors in the diagnosis of myeloproliferative disorders. *Int J Cell Cloning* 1990;8:199-202.
91. Schwarcz TH , LA Hogan , ED Edean , Roitman IT , Kazmers A , Hyde GL .Las complicaciones tromboembólicas de la policitemia vera: policitemia contra la policitemia fumadores. *J Vasc Surg* 1993;17:518-522.
92. Varma S , A Sharma , Malhotra P , S Kumari , Jain S , N Varma. Las complicaciones trombóticas de la policitemia vera. *Hematología* 2008; 13:319-323.
93. Park YH, Huh YE, Kim JS. Oculomotor nerve palsy as an initial manifestation of polycythemia vera. *J Clin Neurosci* 2012;19:328-330.
94. Larghero J. Farnesyltransferase inhibitor tipifarnib preferentially inhibits in vitro autonomous erythropoiesis of polycythemia vera patient cells. *Blood*. 2005;105:3743-3745.
95. Matthew SKatz. Potential of statins for cancer chemoprevention and therapy. *Nature Clinical Practice Oncology* 2005;2:82-89
96. Mason JC., Statins and their role in vascular protection. *Clin Science*. 2003;105:251-266.
97. Hamelin BA. Hydrophilicity/lipophilicity: relevance for the pharmacology and clinical effects of HMG-reductase inhibitors. *Sci* 1998;19:26-37
98. Ishihara K. Disparity between angiographic regression and clinical event rates with hydrophobic statins. *Lancet*. 2002;23:729-736
99. Wolfrum S, Liao JK. Endothelium dependent effects of statins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003; 23:729-736
100. Wong WW. HMG-CoA reductase inhibitors and the malignant cell. *Leukemia*. 2002;16:508-519
101. Chow SC. Immunomodulation by statins. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2009 Jul 4.
102. Mason JC., Statins and their role in vascular protection. *Clin Science*. 2003;105:251-266.
103. Takemoto M. Pleiotropic effects of HMG Co A reductase inhibitors. *Arterioscler Thromb Vasc*. 2001;21:1712-1719.
104. Sassano A. Regulation of leukemic cell differentiation by statins. *Mol Cancer Ther*. 2009; 8:615-625.
105. Burke LP. Statins induce lethal effects in acute myeloblastic leukemia cells. *Leuk Lymphoma* 2008; 49:832