

SINDROME DE WISKOTT-ALDRICH: ESTUDIO DE UNA FAMILIA

Tito Rincón* y María Díez-Ewald**

RESUMEN

Se investigó la función y morfología plaquetaria de una familia con manifestaciones clínicas de síndrome de Wiskott-Aldrich. Los pacientes mostraron alteración severa de la agregación plaquetaria después de estimular con epinefrina, ADP, colágeno y ristocetina. Las madres y un hermano de uno de los pacientes mostraron agregación defectuosa, sin tener manifestaciones clínicas. No hubo respuesta satisfactoria con araquidonato de sodio, ni al mezclar las plaquetas de los pacientes con plaquetas normales tratadas con aspirina. Las plaquetas de los pacientes eran de pequeño tamaño y al microscopio electrónico se observó déficit de gránulos. Los resultados sugieren que además de un defecto de almacenamiento de nucleótidos, puede haber en estos pacientes, alteraciones probablemente de tipo enzimático.

INTRODUCCION

El síndrome de Wiskott-Aldrich es una afección genética, ligada al sexo y de tipo recesivo. Se expresa desde temprana edad por púrpura, infecciones a repetición y eczema (1, 21). La púrpura guarda relación con trombocitopenia, aparentemente debida a disminución de la supervivencia (8, 11, 14) y asociada a disfunción plaquetaria (4), siendo además característico encon-

* Servicio de Hematología, Cátedra de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.

** Instituto de Investigaciones Clínicas, Apartado 1151, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.

trarse con frecuencia plaquetas de tamaño reducido. Los procesos infecciosos obedecen a alteraciones de la inmunidad tanto celular como humoral (6) y se manifiestan por cuadros de tipo enterocolítico, respiratorio y dermatológico.

Este síndrome es poco frecuente, y en Venezuela, no tenemos conocimiento de reportes previos. El motivo de este trabajo es presentar una familia con las características clínicas del síndrome descrito originalmente por Wiskott (21).

MATERIAL Y METODOS

Datos clínicos.

Los sujetos de este estudio son dos primos en primer grado por línea materna.

Paciente D. J. Edad actual 8 meses. A las 3 semanas de edad comenzó a presentar evacuaciones mucosanguinolentas, las cuales ameritaron hospitalización a la edad de 6 semanas. En esa oportunidad se demostró la presencia de salmonella C1 y el examen rectoscópico evidenció lesiones ulcerosas en la mucosa rectal. Fue tratado con cloramfenicol sin lograrse regresión total del cuadro y dos semanas después tuvo manifestaciones purpúricas en piel y trombocitopenia ($30 \times 10^9/l$), por lo que le administraron prednisona a dosis progresivamente ascendentes hasta alcanzar 15 mg diarios, sin que hubiera mejoría aparente.

A las 10 semanas de edad fue visto por el hematólogo, quien suspendió los esteroides ya que había efectos secundarios y la cifra de plaquetas había subido a $91 \times 10^9/l$; a pesar de ello las plaquetas siguieron aumentando hasta alcanzar valores de $250 \times 10^9/l$, sin que hubiera modificaciones del cuadro clínico. Estas cifras de plaquetas han descendido hasta valores anormales en controles posteriores.

Paciente M. A.V. Edad actual 1 año y 5 meses. Desde los tres meses de edad ha presentado cuadros enterocolíticos y procesos infecciosos respiratorios a repetición, recibiendo terapia antibiótica variada. Fue visto por primera vez por el hematólogo a la edad de 10 meses por presentar cuadro purpúrico y lesiones dermatológicas (piodermitis y seborrea) (Fig. 1). El número de plaquetas en esa oportunidad era de $10 \times 10^9/l$ y aumentó a $48 \times 10^9/l$ después de recibir 5 mg diarios de prednisona durante 11 días. Siete días más tarde la cifra de plaquetas subió a $250 \times 10^9/l$ por lo que se omitió la terapia con esteroides y una semana después la cifra se mantuvo ($262 \times 10^9/l$). Clínicamente había desaparecido el cuadro purpúrico.



Fig. 1.- Lesiones dermatológicas en el paciente M.A.V.

En la historia familiar de estos pacientes, se consigna que otro primo en 1er grado por línea materna, de pocos meses de edad, murió con manifestaciones clínicas sugerentes de sepsis después de serle practicada esplenectomía. Tenía historia previa de procesos infecciosos enterocolíticos y respiratorios y se le había practicado esplenectomía a causa de trombocitopenia que no remitió con terapia esteroidea.

No se hallaron otros antecedentes familiares, sin embargo, fueron estudiadas las madres de los pacientes y los hermanos. La figura 2 muestra el árbol genealógico de esta familia.

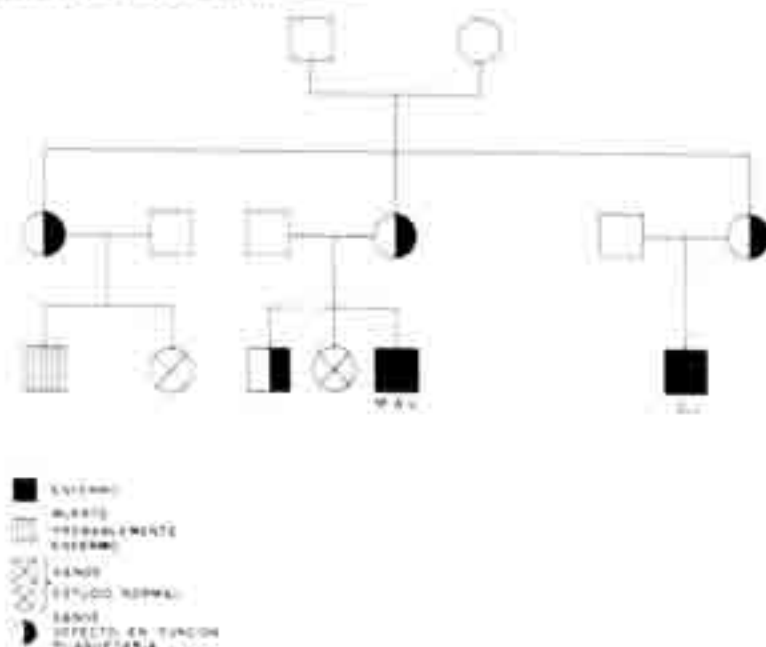


Fig. 2.— Árbol genealógico.

Métodos.

Todos los sujetos en estudio estaban libres de medicamentos, desde los diez días previos a la extracción de sangre; ésta se practicó con técnica de doble jeringa plástica y equipo pericraneal N° 21, a nivel de la vena femoral. La extracción en los familiares se realizó en venas del antebrazo. La sangre se colocó en tubos plásticos en proporción de 9 volúmenes de sangre para un volumen de citrato trisódico al 3,8%. Un alícuota de sangre se mezcló con EDTA y se destinó para el conteo de plaquetas en sangre total. Los tubos destinados a estudio plaquetario se dejaron a temperatura ambiente y los destinados a estudios de coagulación se mantuvieron a 4°C. El plasma rico en plaquetas (PRP) se obtuvo mediante centrifugación a 180 g a temperatura ambiente durante 10 minutos. El plasma pobre en plaquetas (PPP) se obtuvo por centrifugación a 1500 g a 4°C durante 20 minutos.

El conteo de plaquetas en sangre total y en el PRP se realizó utilizando el método de Brecher-Cronkite (4).

La retracción del coágulo se examinó por método cuantitativo a la primera y segunda hora, expresándolo de 0 a ++++.

Tiempo de sangría.— A los pacientes no se les practicó en razón de su edad y su condición de sangrado. En los demás sujetos se realizó de acuerdo a la técnica de Ivy modificada por Mielke (12).

Pruebas de agregación plaquetaria.— Se realizaron utilizando un agregómetro (Chrono-Log Inc) de acuerdo a técnica descrita anteriormente (7). Los agregantes utilizados fueron epinefrina y adenosin-difosfato (ADP) a concentraciones finales de 3×10^{-6} M, colágeno a concentración final aproximada de 6 μ g/ml y ristocetina 1,2 mg/ml.

La disponibilidad del factor plaquetario 3 (Fp3) se determinó mediante el método de Weiss (19) y el factor plaquetario 4, mediante el método de Raby (15).

Los estudios de captación y liberación de serotonina se llevaron a cabo de acuerdo al método descrito por Jenkins y col (10), utilizando 5-hidroxitriptamina- C^{14} (Amersham-Searle) a concentraciones de 5 μ c/ml.

La morfología plaquetaria se observó al microscopio de luz en extendidos de sangre total teñidos con Giemsa, y al microscopio electrónico en alícuotas de PRP preparados según técnica descrita por Maldonado y Pintado (12).

El tamaño de las plaquetas se midió utilizando microscopio de luz y ocular KPL W 10X (Zeiss).

Los tiempos de protrombina, parcial de tromboplastina y trombina se determinaron en el PPP de acuerdo a métodos convencionales.

En el paciente D.J. se realizó aspirado de médula ósea a nivel de la tibia para estudio morfológico al microscopio de luz y además se le determinó la concentración de inmunoglobulinas séricas utilizando un método comercial de difusión en placas (Partigen).

RESULTADOS

Las tablas I y II muestran los resultados de los estudios practicados.

Paciente D.J. En el primer estudio, la concentración de plaquetas fue normal ($250 \times 10^9/l$). En un segundo estudio practicado 5 meses después, el número había descendido a $91 \times 10^9/l$. La retracción del coágulo fue

TABLA I

PRUEBAS DE HEMOSTASIS EN PACIENTES CON SINDROME DE HELLP Y AGREGACIÓN EXCESIVA PLAQUETARIA

Prueba	Tiempo de Sangre (segundos)	Numero de plaquetas ($\times 10^9/l$)	Reacción del tiempo	Pruebas de agregación (segundos)	Grado de agregación (segundos)
T.C. (Normal)	---	200	0	---	---
P.A.V. (Normal)	---	202	0	12.4	54.4
T. de 1	0	222	++++	12.2	70.0
T. de 2	0	224	++++	12.2	72.0
S. de 1	0	220	---	11.2	26.1
W. 1	0	198	---	12.1	76.4
W. 2	1.8	220	---	11.2	73.6
S. de 2	0	222	++++	12.2	64.9
Normal total*	1.8	120 000	+++++	11.14	50.61

* Datos obtenidos en 2 laboratorios en 100 personas normales.

TABLA II

PRUEBAS DE HEMOSTASIS EN PACIENTES CON SINDROME DE HELLP Y AGREGACIÓN EXCESIVA PLAQUETARIA

Prueba	Fase I Reacción 3 segundos	Fase II Reacción 4 segundos	Reacción (segundos)	Pruebas de agregación (segundos)		Reacción a 3 segundos	Pruebas de desagregación**
				Reacción a 10 segundos	Reacción a 20 segundos		
T.C. (Normal)	100	94	Reacción negativa	Reacción negativa	12	Reacción negativa	0
P.A.V. (Normal)	12.2	1.0	12	20	4.0	---	0
T. de 1	12.4	0.0	44	44	22	---	40
T. de 2	14.0	0.0	40	40	20	---	40
S. de 1	10.0	0.0	10	12	10	40	40
W. 1	12.0	2.0	47	74	34	---	---
W. 2	12.0	2.0	70	70	40	---	---
S. de 2	14.0	1.0	100	100	40	40	40
Normal*	17.0-12	4.0-1.0	0	40	40	1.40	200-100

* Normalización de fase I y fase II en 100 personas normales.

nula en ambas oportunidades. Las pruebas de coagulación y los factores plaquetarios 3 y 4 fueron normales.

La agregación plaquetaria en los dos estudios fue francamente anormal con todos los agentes utilizados (Fig 3), pero en el primer estudio al añadir araquidonato de sodio 0.5 mM (concentración final) se produjo una agregación máxima de 35%.

A una persona normal se le administró 1 g de aspirina y dos horas después se le extrajo sangre. Una vez constatados los efectos de inhibición de la segunda fase de la agregación y de desagregación producidos por la aspirina, se fueron sustituyendo plaquetas normales por plaquetas del paciente y se repitió la prueba de agregación. Pudimos observar que a concentración final de ADP de $6 \times 10^{-6}M$, la mejor respuesta se logró cuando la sustitución fue del 18%; la agregación máxima fue del 50%, no se producía desagregación y había una pequeña segunda fase (Fig 4). Este efecto no se observó con los otros agentes agregantes.

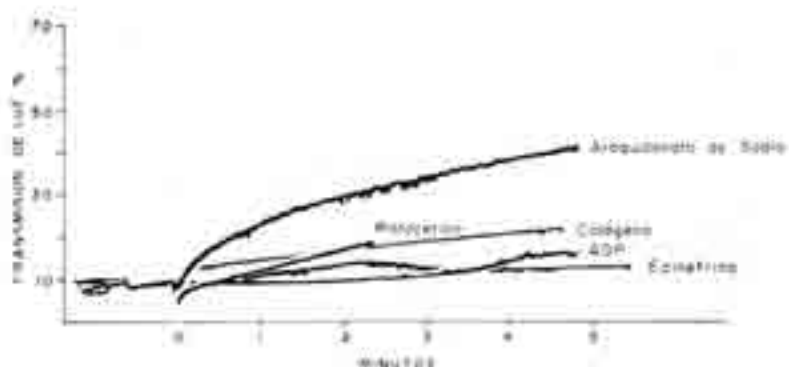


Fig. 3.— Agregación plaquetaria en el paciente D.J.

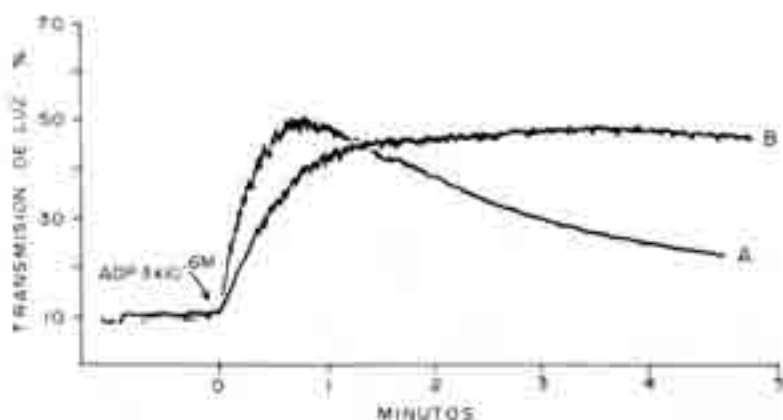


Fig. 4.— Agregación plaquetaria de una persona normal, dos horas después de haber ingerido aspirina (A). Agregación de una mezcla de 82% de plaquetas normales bajo el efecto de aspirina y 18% de plaquetas del paciente D.J. (B).

La captación de 5-hidroxitriptamina- C^{14} fue anormalmente baja (17%) y la liberación sólo se registró cuando se estimuló la agregación con colágeno, siendo igualmente deficiente (7%).

El promedio de medir 50 plaquetas consecutivas en sangre periférica, fue de $1,2 \pm 0,67 \mu\text{m}$ (DE); aparte del tamaño reducido, no se observaron otras alteraciones (Fig 5). El estudio de médula ósea mostró aumento de megacariocitos, algunos de ellos con escasas lobulaciones en el núcleo (Fig 6). Al microscopio electrónico la mayoría de las plaquetas mostraban escasez de gránulos y demás organelos.

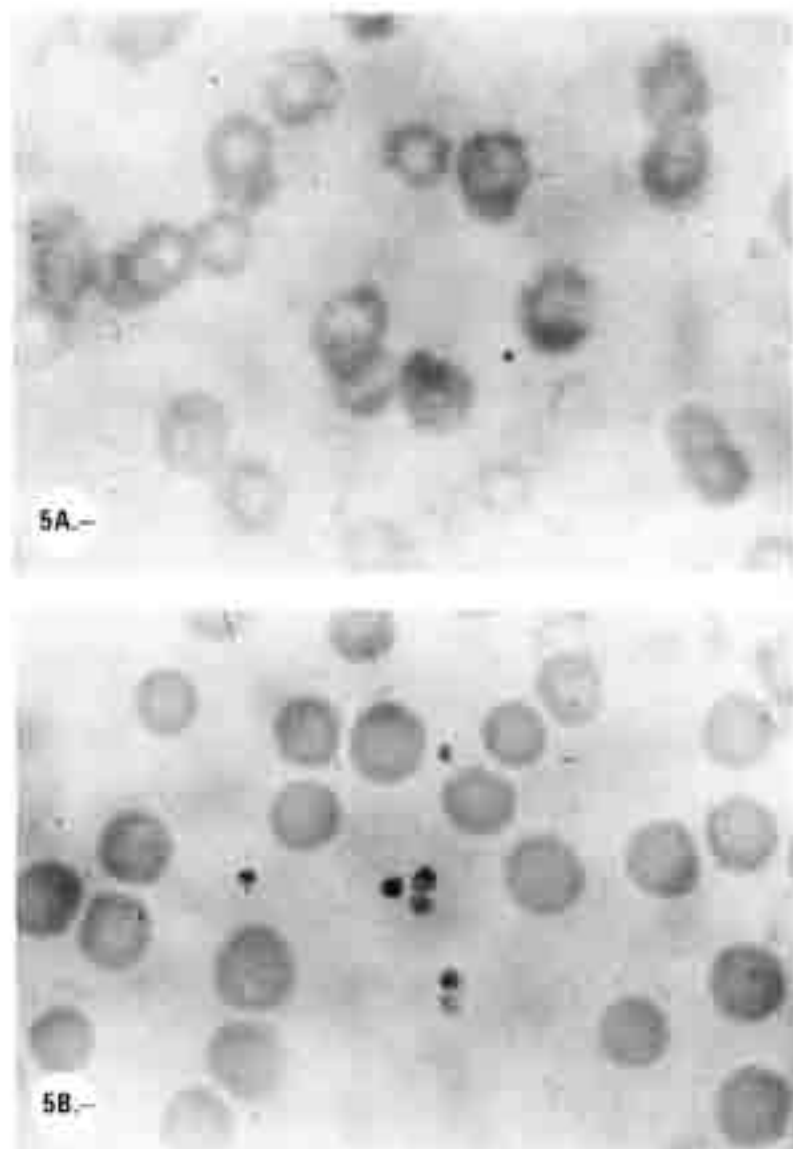


Fig. 5.— Aspecto de las plaquetas en sangre periférica del paciente D.J. (A) Plaquetas normales (B). Aumento 100X.

Las inmunoglobulinas séricas, mostraron concentraciones aumentadas de IgA e IgG mientras que la IgM fue normal.

Paciente M.A.V. Aunque las cifras de plaquetas fueron normales en los dos estudios practicados, la retracción del coágulo estuvo ausente. Las



Fig. 6.- Megacariocito proveniente de médula ósea del paciente D.J. Aumento 100X.

pruebas de coagulación y los factores plaquetarios 3 y 4 fueron normales.

Los estudios de agregación plaquetaria mostraron ausencia de respuesta a ristocetina y respuesta anormal a epinefrina, ADP, y colágeno (13%, 20% y 47% respectivamente) en la primera oportunidad (Fig 7), y ausencia total de respuesta en el segundo estudio. La adición de araquidonato de sodio causó una agregación máxima de 28%, pero el efecto de corrección mutua entre las plaquetas del paciente y plaquetas afectadas por aspirina, no se observó en este caso.

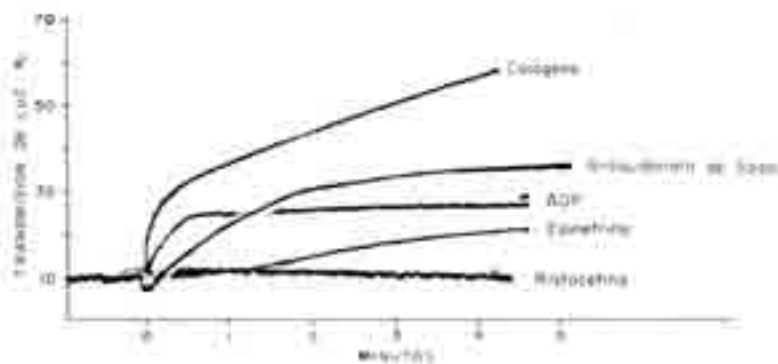


Fig. 7.- Agregación plaquetaria en el paciente M.A.V.

La captación de 5-hidroxitriptamina- C^{14} fue del 26%, y sólo se produjo liberación después de inducir agregación con ADP, con una magnitud de 5,4% de serotonina liberada.

En sangre periférica no se observaron alteraciones morfológicas de las plaquetas. El diámetro promedio, de 50 plaquetas consecutivas fue de $1,11 \pm 0,4 \mu\text{m}$ (DE). El promedio de medir 100 plaquetas, de dos personas normales fue de $1,8 \pm 0,7 \mu\text{m}$; la diferencia de este promedio con el de los dos pacientes fue altamente significativa ($p < 0,001$).

Al microscopio electrónico se pudo también observar la disminución de organelos en un alto porcentaje de las plaquetas. Las figuras 8 y 9 muestran el aspecto al microscopio electrónico de plaquetas normales y plaquetas provenientes del paciente M.A.V. respectivamente.



Fig. 8.— Aspecto ultraestructural de plaquetas normales. Obsérvese la presencia de gránulos (A) y gránulos densos (B), así como de otros organelos. 44.000X.

Los estudios realizados en la madre de D.J. (D. de J.) fueron todos normales, con excepción de la agregación plaquetaria, la cual resultó inferior a lo normal con todos los agentes agregantes. La madre de M.A.V. (A. de V.), además de tener baja agregación máxima, desagregó con epinefrina y ADP; B. de M. hermana de las anteriores y cuyo hijo murió después de esplenectomía, igualmente mostró deficiente agregación plaquetaria. M.V. (hermana de M.A.V.), y E. de P. (hija de B. de M.), tuvieron resultados normales. M.E.V. (hermano de M.A.V.), tuvo agregación plaquetaria

deficiente y su tiempo de sangría estuvo muy cerca del límite superior de lo normal.

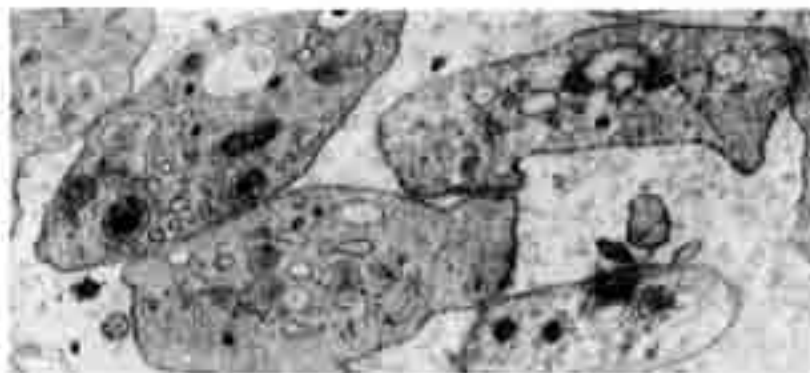


Fig. 9.— Aspecto ultraestructural de plaquetas del paciente M.A.V. Nótese la escasez de gránulos y orgánulos en general. 40.000X.

DISCUSION

La presencia en varios miembros varones de una misma familia, de fenómenos hemorrágicos, infecciones a repetición y eczema, constituye un fuerte indicio para hacer el diagnóstico de síndrome de Wiskott-Aldrich. Esto se vió confirmado, en la familia aquí presentada, por los hallazgos de laboratorio que demuestran la existencia de trombocitopenia y alteración severa del funcionalismo plaquetario. Las alteraciones de la función plaquetaria pudieran ser atribuidas a la trombocitopenia, sin embargo, en nuestros casos, en el momento del estudio, las cifras de plaquetas estaban dentro de límites normales. Grottum y col (8) han encontrado que los gránulos α y los cuerpos densos de las plaquetas se encuentran disminuidos con el consiguiente déficit de la concentración de nucleótidos, por lo que incluyó este síndrome en el grupo conocido como "storage pool disease" o enfermedad por defecto en el compartimiento de depósito. Nuestros hallazgos al microscopio electrónico, así como la captación y liberación disminuidas de 5-hidroxitriptamina, están de acuerdo con esta clasificación.

White y col (20) demostraron, que al mezclar plaquetas normales afectadas por aspirina con plaquetas de pacientes con el síndrome de Hermansky-Pudlak, el cual es considerado como un defecto en el almacenamiento de nucleótidos, éstas se corregían mutuamente, dando una agregación máxima normal, constituida por dos fases bien distintas. La mejor respuesta que nosotros pudimos conseguir, repitiendo ese experimento, fue débil, aunque no se produjo desagregación. Lo mismo sucedió al inducir la agregación con araquidonato de sodio, aunque hubo respuesta,

ésta no fue satisfactoria. Estos resultados parecen indicar que la síntesis de intermediarios de prostaglandinas por parte de las plaquetas de nuestros pacientes, no sea suficiente para contrarrestar el efecto de la aspirina, quizás debido a actividad defectuosa de la ciclo-oxigenasa. Por otra parte, en la enfermedad por defecto de almacenamiento, la primera fase de la agregación se encuentra normal, mientras que en nuestros pacientes fue anormal y no se produjo respuesta a ristocetina, lo cual indicaría que además de defecto de los gránulos, debe haber involucrados otros mecanismos. Como ha sido observado por Grottum (8) y en el presente trabajo, un gran número de las plaquetas de estos pacientes, muestran escasez de otros organelos.

Kuramoto y col (11) han encontrado que en esta enfermedad hay un defecto en el metabolismo energético de las plaquetas. Aparentemente los agentes agregantes tales como epinefrina, ADP y colágeno son incapaces de estimular al ciclo del ácido cítrico, quizás por la ausencia de un regulador "fisiológico" de esta vía metabólica. Ya ha sido demostrado por Steiner y Kuramoto (17), que la energía producida por la estimulación del ciclo del ácido cítrico, es indispensable para que las plaquetas se agreguen y retraigan normalmente.

Aunque las madres de los pacientes no tenían manifestaciones clínicas y respondieron a epinefrina, ADP y colágeno, la respuesta fue deficiente y en una de ellas no se registró segunda fase con epinefrina. Aparentemente éste es un hallazgo frecuente pero no constante en las madres de pacientes con el síndrome de Wiskott-Aldrich (3). Este defecto de la respuesta a epinefrina, también lo observamos en el hermano de un paciente (M.E.V.), quien además tuvo hipogregación con ADP y colágeno y tiempo de sangría muy cerca del límite superior de lo normal.

Otro hecho característico del síndrome que nos ocupa, es el pequeño tamaño de la mayoría de las plaquetas; en realidad, decir que una plaqueta es menor o mayor que lo normal es difícil ya que el promedio normal varía de acuerdo al método utilizado y a los autores. Según Murphy (14), el tamaño normal, medido con un Coulter Counter varía entre 0.8 y 1.2 μm , en cambio Hovig (8) encontró un promedio de 1.5 μm midiéndolas con un microscopio electrónico. Nosotros utilizando microscopio de luz, obtuvimos un promedio normal de $1.8 \pm 0.7 \mu\text{m}$ (DE), lo cual dió una diferencia altamente significativa con el promedio obtenida en los pacientes. El aumento de megacariócitos y la frecuencia de lobulaciones escasas en éstos, hallada en el paciente D.J., está de acuerdo con lo encontrado por otros autores (3).

Aunque sólo se determinó en un paciente (D.J.), es de hacer notar, que a pesar de la gran susceptibilidad a las infecciones, no había deficiencia de inmunoglobulinas. Al igual que lo demostrado por otros autores (6), las IgA e IgG se encontraron elevadas, sin embargo la IgM se encontraba normal. El hecho de existir niveles normales de inmunoglobulinas, no invalida el diagnóstico, ya que el paciente puede producir cantidades normales de IgM, pero su habilidad para producir anticuerpos contra algunos antígenos polisacáridos, incluyendo los grupos A y B, es deficiente (6).

Por lo anteriormente señalado, se puede inferir que el síndrome de Wiskott-Aldrich, representa un espectro muy amplio de la enfermedad. Puede haber casos con las manifestaciones floridas, que mueren a edad muy temprana y casos menos severos, donde se presentan sólo algunas de las manifestaciones de la enfermedad, y cuya sobrevida puede ser más larga (5). Hay varias comunicaciones de casos sin alteraciones inmunológicas o dermatológicas (2, 3, 14, 16, 18). En algunas familias con poco o ningún defecto inmunológico ha habido un aumento de las plaquetas después de esplenectomía (2, 16, 18) y en la familia que nos ocupa, se observó respuesta a esteroides, que en un caso ha persistido por varios meses después de suspendida la droga; esto contrasta con la experiencia de Grottum y col (8) en cuyos casos los esteroides no mejoraron la trombocitopenia o la diátesis hemorrágica.

En conclusión las manifestaciones clínicas, el carácter hereditario, ligado al sexo, la presencia de trombocitopenia, plaquetas pequeñas, escasez de gránulos y trastornos de la función plaquetaria, nos permiten confirmar el diagnóstico de síndrome de Wiskott-Aldrich en los pacientes presentados.

Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento al Dr. Jesús Cupello, del Servicio de Pediatría del Hospital Coromoto de Maracaibo, por su colaboración en uno de los casos presentados y a las Sras. Trina de Oroño, Carmen de Suárez y Félix Quintero por su asistencia técnica.

Este trabajo fue parcialmente financiado, por una subvención del Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia.

ABSTRACT

Wiskott-Aldrich syndrome. Study of a family. Rincón T. (Servicio de Hematología, Cátedra de Medicina Interna, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela), Diez-Ewald M. *Invest Clin* 20(3): 147-161, 1979. - Platelet function and morphology were investigated in a family with clinical manifestations of Wiskott-Aldrich syndrome. Platelet

aggregation was severely impaired with epinephrine, ADP, collagen and ristocetin. There was also defective platelet aggregation in the mothers of the patients and in one sibling, with no clinical manifestations. There was not satisfactory aggregation of the patients platelets after addition of sodium arachidonate, neither after combination with aspirin treated platelets. Platelets were small and electron microscopy showed decreased amount of organelles. The results suggest an enzymatic alteration in the platelets, of these patients, and deficiency of storage nucleotides.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1- ALDRICH RA, STEINBERG AG, CAMPBELL DC: Pedigree demonstrating a sexlinked recessive condition characterized by draining ears eczematoid dermatitis and bloody diarrhea. *Pediatrics* 13: 133-139, 1954.
- 2- ATA M, FISHER OD, HOLMAN CA: Inherited thrombocytopenia. *Lancet* 1: 119-123, 1965.
- 3- BALDINI M: Nature of the platelet defect in the Wiskott-Aldrich syndrome. *Ann NY Acad Sci* 201: 437-444, 1972.
- 4- BRECHER G, CRONKITE EF: Morphology and enumeration of human blood platelets. *Tomado de: Technical Hematology*. Simons A. p. 149, J.B. Lippincott Co. Phila. 1968.
- 5- CANALES L, MAUER AM: Sex-linked hereditary thrombocytopenia as a variant of the Wiskott-Aldrich syndrome. *N Eng J Med* 277: 899-901, 1967.
- 6- COOPER MD, CHASE HF, LOWMAN JT, KRIVIT W, GOOD RA: Wiskott-Aldrich syndrome: An Immunologic deficiency disease involving the efferent limb of immunity. *Am J Med* 44: 499-513, 1968.
- 7- DIEZ-EWALD M, LIAN EC-Y, NUÑEZ R, HARKNESS D: Circulating anticoagulant in a family with prolonged bleeding time and factor VIII deficiency. *Blood* 49: 799-806, 1977.
- 8- GROTTUM KA, HOVIG T, HOLMSEN H, ABRAHAMSEN AF, JERIC M, SEIP M: Wiskott-Aldrich syndrome: Qualitative platelet defects and short platelet survival. *Brit J Haemat* 17: 373-388, 1969.
- 9- HOVIG T: The ultrastructure of blood platelets in normal and abnormal states. *Ser Haemat* 1: 3, 1968.

- 10- JENKINS CSP, MEYER D, DREYFUSS MD, LARRIEU MJ: Willebrand factor and ristocetin. I. Mechanism of ristocetin induced aggregation. *Brit J Haemat* 28: 561-578, 1974.
 - 11- KURAMOTO AM, STEINER M, BALDINI MG: Lack of platelet response to stimulation in Wiskott-Aldrich syndrome. *N Engl J Med* 282: 475-479, 1969.
 - 12- MALDONADO JE, PINTADO T: Ultrastructure of the megakaryocytes in refractory anemia and myelomonocytic leukemia. En: *Platelets, production, function, transfusion and storage*. Baldini MG and Shirley E, ed. p. 105. Grune and Stratton, N.Y. 1974.
 - 13- MIELKE CH Jr, KANESHIRO MM, MAKER IA, WEINER JM, RAPAPORT SI: The standardized normal bleeding time and its prolongation by aspirin. *Blood* 34: 204-215, 1969.
 - 14- MURPHY S, OSKI FA, NAIMAN JL: Platelet size and kinetics in hereditary and acquired thrombocytopenia. *N Engl J Med* 284: 499-504, 1972.
 - 15- RABY C: Hemorragias y trombosis p. 89, Ed. Toray-Mason S.A. Barcelona 1968.
 - 16- SCHAAR FE: Familial idiopathic thrombocytopenic purpura. *J Pediat* 62: 546-551, 1963.
 - 17- STEINER M, KURAMOTO A: Energy metabolism of aggregating platelets. *Ser Haemat* 4: 98, 1971.
 - 18- VESTERMARK B, VESTERMARK S: Familial sex-linked thrombocytopenia. *Acta Paediat (Stockholm)* 53: 365-370, 1964.
 - 19- WEISS HJ, EICHELBERGER JW: Secondary thrombocitopenia: P_f₃ in various disease states. *Arch Intern Med (Chicago)* 112: 827-834, 1963.
 - 20- WHITE JG, GUERRARD JM, WITROP CJ: Platelet-platelet interaction: a simple test for storage pool deficiency and defective prostaglandin synthesis. En: *Platelet function testing* US Department of Health, Education and Welfare. Public Health Service. National Institutes of Health. Day HJ, Holmsen H and Zucker MB ed. pp. 374-385, 1976.
 - 21- WISKOTT A: Familiarer angeborenes Morbus Werhofii[®]. *Machr Kinderh* 68: 212-216, 1937.
-

PREDICTION OF HEMOPHILIC CARRIERS: A NEW STATISTICAL
APPROACH USING SIMULTANEOUS ASSAYS OF FACTOR VIII
COAGULANT ACTIVITY, FACTOR VIII RELATED ANTIGEN
AND RISTOCETIN COFACTOR ACTIVITY

Eric Chun-Yet Lian*, Maria Diaz-Ewald**, Stephen D. Walter*,
Roger Núñez*, Jean-Fern Lian*** and Donald R. Harkness*

ABSTRACT

The posterior probability of each individual for normal or hemophilic carrier was calculated by multivariate discriminant analysis. When both factor VIII coagulant activity and factor VIII-related antigen were used, all of the 30 normal females and 18 of 20 obligatory carriers were correctly classified. When factor VIII coagulant activity and ristocetin cofactor activity were used, 97% of the normal females and 75% of carriers were correctly predicted. When all three parameters were taken into consideration in discriminant analysis, all normals and 17 of 20 carriers were correctly classified. We conclude that concurrent determination of both factor VIII coagulant activity and ristocetin cofactor activity can be used as an alternate or adjunctive method for detecting carriers.

* The Department of Medicine, Veterans Administration Hospital and the Miami Hemophilia Center, Jackson Memorial Hospital, University of Miami, School of Medicine, Miami, Florida, U.S.A.

** Instituto de Investigaciones Clínicas, Apartado-1151, Maracaibo, Venezuela.

*** Department of Epidemiology and Public Health, Yale University School of Medicine, New Haven, Connecticut, U.S.A.

The work was supported by the Veterans Administration Hospital, the John Eric Hemophilia Research Fund, and a N.I.H. Biomedical Research Support Grant. The abstract was presented at the 16th International Congress of Hematology at Kyoto, Japan, 1976.