

Anemias hemolíticas. Revisión de algoritmos diagnósticos de anemias hemolíticas no autoinmunes en nuestro país

Hemolytic anemias. Revision of diagnostic algorithm for
non autoimmune hemolytic anemias in our country

Gustavo Chiappe

Consultorio particular

gustavochiappe@gmail.com



Anemias
Hemolíticas

HEMATOLOGÍA, Vol 19: 20 - 24
Número Extraordinario
XXII CONGRESO
Octubre 2015

Palabras clave: hemólisis,
talasemia,
hemoglobinopatía,
membranopatía

Keywords: hemolysis,
thalassemia,
hemoglobinopathy,
membranopathy

Introducción

Usted tiene un paciente con una anemia hemolítica no inmune. Desde ya que ha confirmado el componente hemolítico a través de la presencia de algunos datos indicativos de destrucción eritrocitaria (intra o extravascular: bilirrubina -en ausencia de síndrome de Gilbert- o LDH aumentadas o haptoglobina disminuída, eventual hemoglobinuria o hemosiderinuria) o de adecuada respuesta medular consecuente (reticulocitosis no atribuible a pérdida aguda, a pico reticulocitario por administración de hierro, cobalamina, folatos o eritropoyetina ni por suspensión de hábito etílico, o a liberación precoz desde una médula ósea invadida por fibrosis, neoplasia, etc.). También ha confirmado, eventualmente hasta con una prueba terapéutica con corticoides, que la negatividad de la

prueba de Coombs directa⁽¹⁾ no se debe a anticuerpos IgA, IgM calientes (usando sueros específicos) o IgG de baja afinidad (usando soluciones de baja fuerza iónica) o en baja concentración (recurriendo a técnicas más sensibles)⁽²⁾. Y también ha descartado la existencia de una enfermedad por crioaglutininas (tan evidente en el histograma de glóbulos rojos e índices eritrocitarios aberrantes en la muestra procesada a temperatura ambiente) y la existencia de un componente aloinmune (post transfusional, anemia hemolítica del recién nacido)⁽³⁾. Ahora tiene la misión de dilucidar si el paciente es portador de alguna de las siguientes patologías, todas ellas con componente hemolítico, aunque éste a veces no sea el elemento más relevante del cuadro clínico:

- Hereditarias
 - A) Hemoglobinopatías
 - talasemias o hemoglobinopatías talasémicas
 - hemoglobinopatías estructurales en condición homocigota/doble heterocigota o heterocigota (hemoglobinopatías inestables)
 - B) Membranopatías
 - esferocitosis hereditaria
 - ovalocitosis hereditaria
 - estomatocitosis hereditaria
 - C) Enzimopatías
 - del ciclo de las pentosas. Ej.: deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa
 - de la vía directa de la glicólisis. Ej.: deficiencia de piruvato kinasa
 - del metabolismo de los nucleótidos. Ej.: deficiencia de pirimidin-5-nucleotidasa
 - Adquiridas
 - D) Microangiopatías trombóticas
 - púrpura trombocitopénica trombótica
 - síndrome urémico hemolítico
 - E) Hemoglobinuria paroxística nocturna
 - F) Otras causas menos frecuentes

Para esta misión usted cuenta con un arsenal semiológico, aplicable tanto al propósito como a sus familiares consanguíneos, al que irá recurriendo según la orientación que obtenga a partir de una exhaustiva evaluación de la morfología eritrocitaria. El diagnóstico del paciente se va a ir definiendo según una mayor tendencia de datos positivos hacia una patología determinada, en detrimento del resto de entidades nosológicas que irán descartándose gradualmente a través de uno o más datos negativos para las mismas.

A) Hemoglobinopatías

Ante la sospecha de una hemoglobinopatía corresponde investigar cuali-cuantitativamente las variantes de hemoglobina (Hb) presentes solicitando:

- electroforesis de hemoglobina en acetato de celulosa a pH alcalino
- cuantificación de hemoglobina A2
- cuantificación de hemoglobina Fetal por desnaturalización alcalina o ácida (valuación funcional)

1) Síndromes talasémicos y hemoglobinopatías talasémicas (Lepore, E, etc.).

Son fácilmente sospechables por su microcitosis e hipocromía, sobre todo si están presentes también en familiares consanguíneos, recordando que hay otras causas de microcitosis

hipocrómica (ferropenia, anemias sideroblásticas hereditarias) y no hipocrómica (anemias con esquistocitos).

- a) La presencia de punteado basófilo y de una Hb A2 mayor de 3.5 % prácticamente certifican el diagnóstico de una **β -talasemia heterocigota** (talasemia menor)⁽⁴⁾.
- b) La coexistencia de microcitosis hipocrómica y de una banda anómala en la electroforesis de hemoglobina hará sospechar una **hemoglobinopatía talasémica**: banda entre Hbs A y A2 (11-15 %) y ascendencia mediterránea orientarán hacia una Hb Lepore (deleccional), banda en posición de Hb A2 (20-25 %) y ascendencia del sudeste asiático sugerirán una Hb E (mutacional). El estudio familiar es fundamental en el diagnóstico diferencial de co-herencia de una hemoglobinopatía y de un síndrome talasémico (Ej.: S/Beta-talasemia).
- c) Si los valores eritrocíticos son más bajos (Hb < 9 g/dL) de lo esperable para una talasemia menor corresponderá sospechar una **talasemia intermedia**⁽⁵⁾, eventualmente con presencia de eritroblastos circulantes, por lo que se impone el estudio de ambos padres, uno de los cuales puede ser hematimétricamente normal, por ejemplo, por presencia de una triple α heterocigota ($\alpha\alpha/\alpha\alpha$).
- d) Los pacientes con **talasemia mayor** se presentan con anemia muy severa a partir de los 4-6 meses de vida y generalmente se diagnostican antes de los 2 años de edad.
- e) Una Hb A2 tirando a baja (< 2 %) hará pensar en α -talasemia⁽⁶⁾, ya sea **rasgo α -talasemia**, con valores e índices eritrocíticos en el límite inferior normal, o **portador de α -talasemia**, con valores y sobre todo índices eritrocíticos disminuidos, en grado similar a los de una β -talasemia heterocigota.
- f) Si los valores eritrocíticos son más bajos (Hb < 9 g/dL) de lo esperable para una α -talasemia leve corresponderá sospechar una **enfermedad con Hb H** (homotetrámeros β_4), eventualmente con presencia de cuerpos de inclusión (pelotas de golf) en coloraciones supravitales (azul brillante de cresilo), por lo que se impone un estudio de ambos padres, posiblemente uno con rasgo de α -talasemia y el otro portador de α -talasemia.

2) Hemoglobinopatías estructurales. Presentan cuadro de anemia hemolítica en dos circunstancias:

- a) formas homocigotas (X/X) o doble heterocigotas (X/talasemia) de **hemoglobinopatías S⁽⁷⁾, C, D, etc.**, cada una con su patrón electroforético característico compartido en forma heterocigota por familiares consanguíneos de ambas ramas, paterna y materna.
- b) **hemoglobinopatías inestables**, con anemia hemolítica severa en el heterocigota, frecuentemente por mutaciones espontáneas (por consiguiente con patrón familiar negativo). La presencia de cuerpos de Heinz múltiples (por precipitación de la hemoglobina inestable) y la prueba de estabilidad al isopropanol (Carell y Kay) positiva son muy orientadoras.

Salvo la β -talasemia heterocigota típica y los síndromes con Hb S, identificables por la drepanoformación espontánea -células falciformes irreversibles- en las formas compuestas o inducible por metabisulfito de sodio en los casos heterocigotas- todas las demás hemoglobinopatías (β -talasemia heterocigota atípica, talasemia intermedia o mayor, alfa talasemia -en todas sus variantes- o hemoglobinopatía talasémica o estructural) requieren estudios del ADN para su correcta evaluación diagnóstica.

B) Membranopatías

Las membranopatías son en general fácilmente sospechables por la morfología eritrocitaria: esferocitos, ovalocitos, acantocitos (espontáneos o post incubación a temperatura ambiente por 24 hs.: el componente hemolítico es mínimo en las neuroacantocitosis), estomatocitos, xerocitos, esquistocitos, a veces con marcada poiquilocitosis⁽⁸⁾. Recordar que esferocitos y ovalocitos nacen de médula ósea morfológicamente normales y recién se deforman en la circulación periférica (más precozmente que los esferocitos de una anemia hemolítica autoinmune, por lo que los índices reticulocitarios son útiles en el diagnóstico diferencial).

1) Esferocitosis hereditaria.

Los pacientes con esferocitosis hereditaria⁽⁹⁾ típica suelen presentar un cuadro hemolítico franco. Los casos más severos son diagnosticados en la primera infancia (ictericia neonatal severa)⁽¹⁰⁾, los más leves pueden llegar sin diagnóstico hasta la adolescencia o adultez. La morfología eritrocitaria es rápidamente orientadora. La presencia de esferocitos impone el

diagnóstico diferencial con anemia hemolítica autoinmune, para lo cual son fundamentales los antecedentes clínicos del paciente y de sus familiares (hemólisis crónica vs. aguda, patologías concomitantes -litiasis biliar-), los índices reticulocitarios y el estudio inmunohematológico (prueba de Coombs, identificación de la clase de anticuerpo, especificidad, título, rango térmico, etc.). Con el paciente ya medicado con ácido fólico corresponde solicitar los estudios diagnósticos específicos viejos (resistencia osmótica, autohemólisis) o nuevos (criohemólisis hipertónica, citometría de flujo con 5'EMA), imprescindibles antes de tomar la decisión de esplenectomizar al paciente. Recordar que la esferocitosis hereditaria es de herencia compleja, dominante en el 75 % de los casos y recesiva o por mutaciones de novo en el resto y que la concentración de hemoglobina es el dato más útil para definir la severidad del cuadro clínico (silente, leve, moderado, severo o muy severo) y orientar la conducta terapéutica (la esplenectomía suele mejorar en uno-dos niveles la severidad clínica, debiendo replantear el diagnóstico en caso de no respuesta).

2) Ovalocitosis hereditaria

La ovalocitosis hereditaria suele presentarse como un cuadro hemolítico leve-moderado (hay formas silentes sin componente hemolítico) de herencia autosómica dominante. El diagnóstico pasa por la elocuente morfología eritrocitaria (compartida por familiares consanguíneos) sin evidencia de otra alteración morfológica significativa ni de otra causa de ovalocitosis (ferropenia, talasemias). Los estudios de membrana suelen ser negativos. La piropoiquilocitosis hereditaria es una forma particularmente severa de ovalocitosis hereditaria, generalmente de herencia recesiva, con marcada alteración morfológica y fragmentación de los eritrocitos.

3) Estomatocitosis hereditaria.

Las estomatocitosis hereditarias (sobrehidratada, deshidratada, criohidrocitosis, etc.) son de muy baja frecuencia y difíciles de sospechar cuando los estomatocitos no son evidentes en el frotis (particularmente en la forma sobrehidratada). Los estudios habituales de membrana son negativos y el diagnóstico requiere la medición del flujo de iones⁽¹¹⁾. Es fundamental no confundirla con una esferocitosis hereditaria, ya que la esplenectomía está contraindicada (trombosis frecuente).

C) Enzimopatías

Las enzimopatías suelen presentarse con dos cuadros clínicos diferentes: anemia hemolítica en relación con estrés oxidativo o anemia hemolítica crónica no esferocítica, el primero relacionable con enzimopatías del ciclo de las pentosas, en particular deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, el segundo con enzimopatías de la vía directa de la glicólisis, como la deficiencia de piruvato kinasa, aunque también por deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa de clase I, ambas de frecuencia semejante. La deficiencia de pirimidin-5-nucleotidasa es fácilmente sospechable a partir del llamativo punteado basófilo.

1) Deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa.

El cuadro es altamente sospechoso cuando un paciente, más frecuentemente varón sin antecedentes clínicos y con hemogramas previos normales, debuta bruscamente (un rayo en un día de sol) con una crisis hemolítica aguda y se puede rastrear alguna causa posible de estrés oxidativo reciente: cuadro infeccioso, ingesta de droga oxidante (DAPS, antipalúdicos, sulfamidas, rasburicasa, etc.)⁽¹²⁾.

En el momento agudo el propósito pasa a tener sólo un objetivo terapéutico (de sostén: suspensión del agente oxidante, ácido fólico, transfusiones), mientras que el objetivo diagnóstico vira hacia sus familiares consanguíneos, recordando que, dada la herencia ligada al X, si el propósito es varón, madre e hijas serán portadoras obligadas y padre e hijos varones normales. La mayoría de las variantes enzimáticas de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa son inestables, con una vida media muy corta, por lo que los estudios en el propósito en el momento agudo, dada su elevada reticulocitosis, suelen dar resultados falsamente normales.

Las armas diagnósticas son dos: la prueba de Brewer y la medición de la actividad enzimática, la primera en el límite de sensibilidad para detectar mujeres heterocigotas y sólo válida para confirmar/descartar varones hemocigotas y mujeres homocigotas. La actividad enzimática en los varones hemocigotas dependerá de la variante enzimática: < 10 % en clase II, 10-60 % en clase III. En las mujeres heterocigotas la actividad enzimática estará un poco menos descendida, pudiendo variar ampliamente por una inactivación sesgada de un cromosoma X. La confirmación diagnóstica será retrospectiva cuando, al menos un mes después de superada

la crisis hemolítica, se mida la actividad enzimática en el propósito.

2) Enzimopatías de la vía directa de la glicólisis.

De paran cuadro clínico de anemia hemolítica crónica no esferocítica, rótulo descriptivo que advierte que lo único positivo es la anemia hemolítica crónica, de severidad muy variable, y que todo lo demás es negativo, tanto la morfología eritrocitaria (salvo la macrocitosis y policromatofilia que acompañan a la reticulocitosis) como los estudios parentales sin ninguna evidencia de hemólisis, ya que, salvo la deficiencia de fosfoglicerato kinasa, de herencia ligada al X al igual que la deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, todas las demás son de herencia autosómica recesiva, por lo que sólo algún hermano/a suele compartir el mismo cuadro clínico. Algunas enzimopatías pueden presentar (a veces dependiendo de la subunidad afectada) cuadro clínico no hematológico que es orientador para el diagnóstico: miopatía (fosfofructo kinasa), disfunción neurológica (triosa fosfato isomerasa), retardo mental (fosfoglicerato kinasa).

De todos modos la confirmación diagnóstica pasa por la derivación de muestras de sangre a laboratorios especializados para la medición de la actividad enzimática en el propósito y sus familiares consanguíneos.

D) Micronagiopatías trombóticas

La identificación de hematíes fragmentados (esquistocitos) en el frotis de sangre periférica en el contexto de una anemia hemolítica acompañada de plaquetopenia es esencial para el diagnóstico de componente microangiopático propio de las microangiopatías trombóticas (púrpura trombocitopénica trombótica, síndrome urémico hemolítico), o de cuadros clínicos severos (neoplasias o infecciones sistémicas, hipertensión arterial maligna, etc.)

E) Hemoglobinuria paroxística nocturna

En la hemoglobinuria paroxística nocturna la clave está en la sospecha frente a todo caso de anemia hemolítica (rara vez paroxística -salvo exacerbaciones en relación con cuadros infecciosos- o nocturna) asociada con plaquetopenia, neutropenia, ferropenia o trombosis⁽¹³⁾. Recordar que la hemólisis es de los eritrocitos pertenecientes al clon minusválido (con expresión disminuida o ausente del puente glicosilfosfatidilinositol) que emerge a partir de la aplasia/hipoplasia del clon normal. El clon patológico puede ser detectado fehacientemente por citometría

de flujo demostrando la ausencia en membrana de proteínas ancladas a través del puente glicosilfosfatidilinositol (CD55, CD59, etc.) en por los menos dos líneas celulares (eritrocitos, neutrófilos, monocitos) o de proaerolisina marcada con fluoresceína (FLAER).

Conclusión

Los algoritmos, como jardines de senderos que se bifurcan, son riesgosos si los criterios de bifurcación no son sólidos y categóricos. Las anemias en general suelen ser multifactoriales, y las hemolíticas en particular presentarse con cuadros atípicos, por lo que suele ser más útil guiarse en el laberinto diagnóstico por conjuntos de criterios más que por criterios aislados que pueden desviar erróneamente el rumbo diagnóstico.

Declaración de conflictos de interés:

El autor declara no poseer conflictos de interés.

Bibliografía

1. Segel GB, Lichtman MA. Direct antiglobulin (“Coombs”) test-negative autoimmune hemolytic anemia: A review. *Blood Cells Mol Dis* 2014 Apr;52(4):152-60.
2. Bass GF, Tuscano ET, Tuscano JM. Diagnosis and classification of autoimmune hemolytic anemia. *Autoimmun Rev*. 2014 Apr-May;13(4-5):560-4.
3. Meulenbroek EM, Wouters D, Zeerleder SS. Lyse or not to lyse: Clinical significance of red blood cell autoantibodies. *Blood Rev* 2015 May 8. pii: S0268-960X(15)00031-4.
4. Nienhuis AW, Nathan DG. Pathophysiology and Clinical Manifestations of the β -Thalassemias. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2012 Dec 1;2(12):a011726.
5. Musallam KM, Taher AT, Rachmilewitz EA. β -Thalassemia Intermedia: A Clinical Perspective. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2012 Jul;2(7):a013482.
6. Vichinsky EP. Clinical manifestations of α -thalassemia. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2013 May 1;3(5):a011742.
7. Kato GJ, Gladwin MT, Steinberg MH. Deconstructing sickle cell disease: reappraisal of the role of hemolysis in the development of clinical subphenotypes. *Blood Rev* 2007 Jan;21(1):37-47.
8. King MJ, Garçon L, Hoyer JD, Iolascon A, Picard V, Stewart G, Bianchi P, Lee SH, Zanella A. International Council for Standardization in Haematology ICSH guidelines for the laboratory diagnosis of nonimmune hereditary red cell membrane disorders. *Int J Lab Hematol* 2015 Jun;37(3):304-25.
9. Bolton-Maggs PH, Langer JC, Iolascon A, Tittensor P, King MJ. Guidelines for the diagnosis and management of hereditary spherocytosis - 2011 update. *Br J Haematol* 2012 Jan;156(1):37-49.
10. Christensen RD, Yaish HM, Gallagher PG. A Pediatrician’s Practical Guide to Diagnosing and Treating Hereditary Spherocytosis in Neonates. *Pediatrics* 2015 Jun;135(6):1107-1114.
11. Gallagher PG. Disorders of red cell volume regulation. *Curr Opin Hematol* 2013 May;20(3):201-7.
12. Luzzatto L, Seneca E. G6PD deficiency: a classic example of pharmacogenetics with on-going clinical implications. *Br J Haematol* 2014 Feb;164(4):469-80.
13. Brodsky RA. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* 2014 Oct 30;124(18):2804-11.