

DETECCIÓN DE HEMOGLOBINOPATÍA SC EN PACIENTE PEDIÁTRICO

AUTORES

Isabel María Portell-Rigo¹, María Angustias Molina-Arrebola, Cristóbal Avivar-Oyonarte.

CORRESPONDIENTE AL AUTOR

1. Área Integrada de Laboratorios Clínicos. Hospital de Poniente. El Ejido (Almería).

Área Integrada de Biotecnología. APES Hospital de Poniente. Carretera de Almerimar, 31. 04700, El Ejido (Almería). Teléfono: +34950022554. Fax +34950022601 Correo electrónico: isabelmaria.portell@ephpo.es

PALABRAS CLAVE

Keywords

Hemoglobinopatía SC, cromatografía líquida de alta resolución, HPLC, secuestro esplénico, parvovirus B19.

Hemoglobinopathy SC, high performance liquid chromatography, HPLC, splenic sequestration, parvovirus B19.

TÍTULO

Title

Detección de Hemoglobinopatía SC en paciente pediátrico

RESUMEN

Summary

Las hemoglobinopatías constituyen un grupo heterogéneo de enfermedades hereditarias autosómicas recesivas que se producen por alteraciones de la molécula de hemoglobina. La cadena que con más frecuencia se afecta es la beta. Su diagnóstico en el laboratorio resulta esencial por sus implicaciones clínicas.

Describimos un caso de hemoglobinopatía SC diagnosticado a raíz de un cuadro agudo de secuestro esplénico e infección por parvovirus B19.

Los movimientos poblacionales producidos por el estado creciente de globalización obligan a los laboratorios clínicos a estar preparados para afrontar diagnósticos hasta ahora prácticamente desconocidos en nuestro medio, como es la hemoglobinopatía SC.

Hemoglobinopathies constitute a heterogeneous group of autosomal recessive hereditary diseases produced by alterations in the hemoglobin molecule. The chain most frequently affected is the beta chain. Their diagnosis in the laboratory is essential because of their clinical implications.

We describe a case of hemoglobin SC diagnosed as a result of an acute picture of splenic sequestration and infection by parvovirus B19.

The population movements in the growing state of globalization forces to our laboratories to face diagnoses so far practically unknown in our environment, such as hemoglobinopathy SC.

INTRODUCCIÓN

Las hemoglobinopatías son trastornos genéticos hereditarios que afectan a la hemoglobina (Hb) a nivel estructural, de síntesis o de funcionalidad y se clasifican principalmente en dos grandes grupos: talasemias y hemoglobinopatías estructurales (1).

Las hemoglobinopatías estructurales son consecuencia de las mutaciones genéticas producidas a nivel de la secuencia de aminoácidos de una de las cadenas de globina de la Hb, generando así la síntesis de hemoglobinas (Hbs) anómalas denominadas "variantes de Hb". Se describen más de 1.300 variantes de hemoglobinopatías estructurales que afectan aproximadamente al 7 % de la población mundial. La HbS y la HbC se encuentran especialmente en las personas de etnia negra, la HbE es típica del sudeste asiático, la HbD se encuentra en el Punjab (India) y la HbO-Arab en el Extremo Oriente. Aunque son más frecuentes en países endémicos de malaria, la HbS y la HbC también se encuentran en población blanca, sobre todo en países del área mediterránea, y se han descrito en Andalucía y Extremadura. Debido al aumento de los flujos migratorios en los últimos años estamos asistiendo a pacientes con este tipo de patología, hasta hace poco tiempo desconocida en nuestro medio (2). Se transmiten con carácter autosómico recesivo y cerca del 90 % de estas Hbs anormales ocurren por una mutación puntual en la que el cambio se produce a nivel de un solo aminoácido. La consecuencia final de la mutación es, en la mayoría de los casos, una alteración en las propiedades fisicoquímicas de la molécula de Hb: cambios en la movilidad electroforética, en la polimerización de la Hb dentro de la célula (HbS, HbC), en la afinidad por el oxígeno, en la estabilidad de la molécula o la acumulación de metahemoglobina, dando lugar a las diferentes manifestaciones clínicas, según el tipo de hemoglobinopatía estructural y si se trata de un individuo en estado homocigoto o heterocigoto (1,2).

MATERIAL Y MÉTODOS

Describimos un caso de doble heterocigosis SC a raíz de un cuadro agudo de anemia y esplenomegalia masiva, en cuanto a caracterización de sus índices hematimétricos, datos bioquímicos, hallazgos morfológicos en sangre periférica, métodos de cribado y detección.

El análisis del hemograma fue realizado en el autoanalizador hematológico DxH800 (Beckman-Coulter®), y el análisis bioquímico con el sistema AU 5800 (Beckman-Coulter®). La visualización del frotis de sangre periférica se realizó tras tinción clásica con May-Grünwald-Giemsa. Ante la sospecha de la presencia de HbS realizamos el test de falciformación o modificación del test de solubilidad, después de realizar la mezcla de sangre total con el agente reductor metabisulfito sódico al 2% y su visualización en fresco en lectura inmediata y tras incubación de 2 y 24 horas. El cribado de hemoglobinopatía estructural fue llevado a cabo con el sistema TOSOH G8 (HLC-723®G8) (Horiba Medical®), sistema de cromatografía líquida de alta resolución (*high performance liquid chromatography*, HPLC) automatizado que usa cromatografía líquida de alta eficacia con intercambiador iónico no poroso catiónico mediante la diferencia iónica, para separación de variantes, en programa de 1,6 minutos. La absorbancia del eluido de Hb es cuantificada en una doble longitud de onda (415 y 500 nm). El estudio de electroforesis capilar se realizó en un laboratorio de referencia.

RESULTADOS

Descripción del caso

Presentamos el caso de un niño de 13 años de edad, natural de Nigeria, que es trasladado desde su domicilio a Urgencias de nuestro hospital por desconexión brusca del medio y pérdida de consciencia, precedido de vómitos y malestar general.

No destacan antecedentes familiares de interés. A su llegada a urgencias se encuentra en estado comatoso, coloración amarillenta de piel y mucosas, fiebre de 38,4°C y marcada esplenomegalia (23 cm).

Se solicita al laboratorio una petición analítica urgente de hemograma, bioquímica y gasometría venosa. En la tabla 1 se indican los resultados analíticos más relevantes.

Se solicita la realización de un frotis de sangre periférica a Hematología. Se visualiza al microscopio, pero debido a la intensa anemia no es posible una visualización óptima. Ante la situación de extrema urgencia, se realiza la transfusión de hematíes iniciándose simultáneamente tratamiento antibiótico empírico.

Magnitud	Valor	Rango de referencia en nuestro hospital
Hemoglobina (g/dL)	1,5	12,5-16
Hematíes ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	0,66	4,1-5,55
Hematocrito (%)	5,8	36,5-47,5
Volumen corpuscular medio (fL)	88,1	78-93
Leucocitos ($10^3/\mu\text{L}$)	56,4	4,5-11,4
Reticulocitos (%)	10	0,5-2,8
Reticulocitos absolutos ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	66	30-105
Plaquetas ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	163	130-450
Actividad de protrombina (%)	55	> 60
Fibrinógeno (mg/dL)	550	150-500
Dímero D (ng/mL)	5.538	< 500
Lactato deshidrogenasa (LDH) (U/L)	1.891	50-683
GOT (U/L)	112	10-50
Bilirrubina total (mg/dL)	1,36	0,3-1,26
Bilirrubina indirecta (mg/dL)	1,25	0-0,75
Proteína C reactiva (mg/dL)	6,01	0-0,5
Ferritina (ng/mL)	3.039,1	6-320
Procalcitonina (ng/mL)	0,89	0,02-0,5

Tabla 1.
Resultados hematimétricos y bioquímicos y rangos de referencia en nuestro hospital.

Debido a la situación actual de pandemia mundial por coronavirus SARS-CoV-2 (COVID 19) se realiza PCR (negativa) y serología (IgM e IgG negativa). El test de antígeno de *Plasmodium* también resulta negativo. Se recibe muestra post-transfusional cuyo valor de hemoglobina es de 5,5 g/dL. Se

realiza un frotis de sangre periférica en el que se observa la presencia de policromasia en la serie roja, dianocitos, aislados eritroblastos y hematíes irregulares con aspecto de quilla de barco (Figura 1). El hallazgo de esos datos tan característicos aconseja iniciar el estudio de una posible hemoglobinopatía.

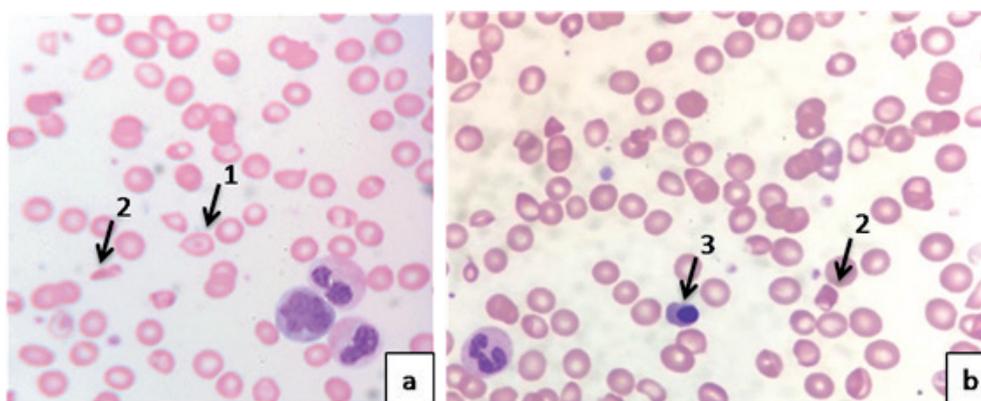


Figura 1.
Frotis de sangre periférica, tinción May-Grünwald-Giemsa ($\times 1000$). Se observa anisopoiquilocitosis, con presencia de dianocitos (1), hematíes irregulares con aspecto de quilla de barco (2) y eritroblastos aislados (3).

Se realiza el test de falciformación con metabisulfito sódico, resultando positivo. El análisis de Hb por HPLC muestra un cromatograma con doble pico anormal de Hb: presencia de variante V1 compatible con HbS (14,68 %) y presencia de variante V2 compatible con HbC (15,08 %) junto con Hb A0 (89,58 %) (proveniente del origen post-transfusional de la muestra) (Figura 2). La obtención de resultados por HPLC de la muestra pre-transfusional no fue posible, debido a la intensa anemia.

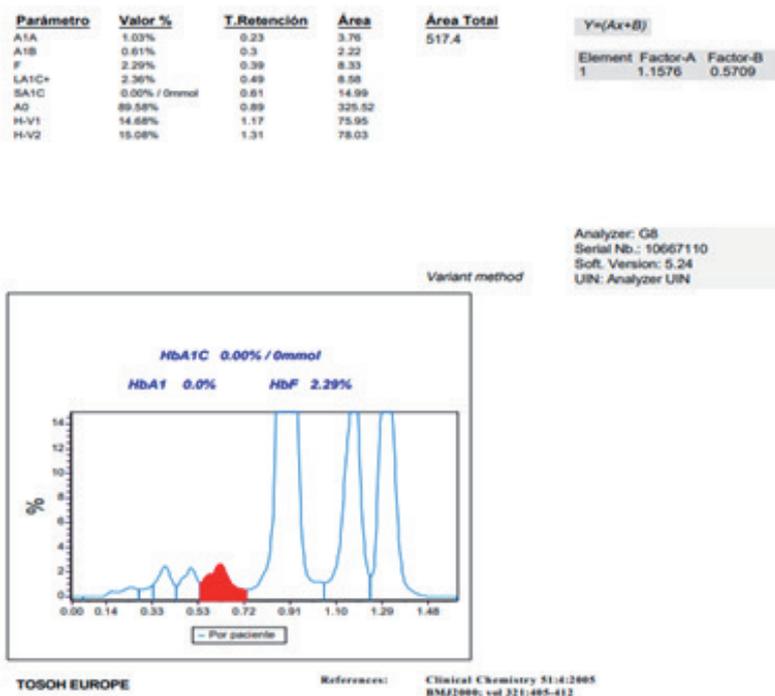


Figura 2.
Gráfica obtenida por HPLC.

Se envía la muestra pre-transfusional al laboratorio de referencia para confirmación por electroforesis capilar. El resultado obtenido indica la presencia de HbS de 32,5 % y HbC de 46,2 % (Figura 3). El paciente es diagnosticado de hemoglobinopatía SC.

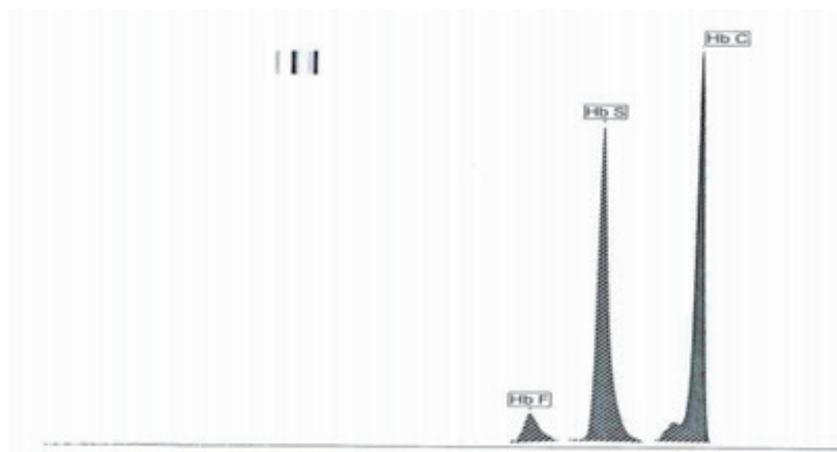


Figura 3.
Gráfica obtenida por electroforesis capilar.

Fraciones	%	Ref. %
Hb F	4,1	
Hb S	32,5	
Hb C	46,2	
Hb A2	2,2	

Serología a virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), virus de la hepatitis A, B y C negativas. Posteriormente se realiza serología de Parvovirus B19 resultando IgM e IgG positiva.

DISCUSIÓN

La hemoglobinopatía S es la más frecuente a nivel mundial y la de mayor impacto clínico. Presenta una alta incidencia en la población de raza negra afectando a un elevado porcentaje de población africana, y, con menor frecuencia, puede observarse en países del Mediterráneo. La base genética de la HbS es la sustitución de timina por adenina, provocando el cambio del aminoácido ácido glutámico por valina en posición 6 del cromosoma 11 de la cadena β de la globina. Esto genera cambios muy importantes en la polimerización, formándose estructuras rígidas e insolubles (cuerpos tactoides) que distorsionan el hematíe y hacen que adopte la característica forma de hoz (drepanocito o *sickle cell*). Estos hematíes provocan obstrucciones vasculares (microinfartos) y aumentan la viscosidad sanguínea, afectando especialmente a los individuos en estado homocigoto (anemia falciforme o HbSS) con clínica muy variable y grave y caracterizada por presentar crisis hemolíticas, dolor, episodios trombóticos, síndrome torácico agudo, necrosis avasculares óseas, etc. Presentan anemia normocítica con frotis característico: dianocitos, policromasia, eritroblastos, esferocitos y, sobre todo, drepanocitos, especialmente en la crisis hemolítica. Los sujetos heterocigotos (rasgo drepanocítico, HbAS) no suelen presentar alteraciones en el hemograma aunque se describen trombosis, hematuria (necrosis papilar), infartos óseos, rabiomiolisis y muerte tras esfuerzo físico intenso o deshidratación (3).

La HbC se produce por la sustitución del aminoácido ácido glutámico por lisina en la posición 6 del cromosoma 11 de la cadena β de la globina, misma posición que la mutación de la HbS. Ocasiona cambios en la solubilidad de la Hb y en la forma del hematíe, pero las manifestaciones clínicas y alteraciones en el hemograma son menos frecuentes y menos graves que en la HbS. El paciente homocigoto (HbCC) presenta hemólisis crónica, anemia moderada micro o normocítica, típicamente hiperocrómica, destacando morfológicamente los dianocitos, células de contornos irregulares por cristalización de HbC y eritroblastos. Los heterocigotos (HbAC) son asintomáticos, sin anemia, pero con tendencia a presentar microcitosis e hiperocromía. El frotis de sangre periférica muestra aislados dianocitos.

La coherencia de las mutaciones de la β globina de la HbS y la HbC da lugar a la

hemoglobinopatía SC. Es el segundo subtipo más común de enfermedad de células falciformes y se trata de un síndrome drepanocítico doble heterocigoto en el que no existe gen β normal, por lo que no hay presencia de HbA. La migración desde África occidental propagó la aparición de HbC y esta variante HbSC a otros países de Europa y América, entre otros (3).

Los pacientes con hemoglobinopatía SC suelen tener unos niveles de Hb más elevados que en la HbSS; aproximadamente, el 70% de los pacientes presenta anemia leve y solamente un 10 % presenta anemia normo o ligeramente microcítica, con cifras de Hb < 10 g/dL, y con la concentración de hemoglobina corpuscular media algo elevada. Existe menor grado de anemia hemolítica, con una vida media del hematíe de unos 27 días, en comparación con los 17 días de la anemia falciforme; la leucocitosis está ausente o levemente elevada y el recuento de plaquetas puede ser normal o presentar trombocitopenia (leve-moderada) que suele ser más grave en los pacientes que presentan esplenomegalia (4,5).

El diagnóstico en general suele ser tardío debido a la baja prevalencia de anemia grave en estos pacientes y la aparición más tardía de los síntomas en comparación con la anemia falciforme. A veces el diagnóstico se realiza tras la aparición de alguna complicación grave, y a veces la esplenomegalia es el único hallazgo físico detectable. En el examen morfológico no se suelen observar los clásicos drepanocitos, y sí dianocitos junto a unas células de bordes agudos, poiquilocitos, que se describen como en forma de quilla de barco (*boat-shaped cells*). En la electroforesis de hemoglobina la HbS y HbC están presentes en similares proporciones. La prueba de falciformación es positiva (2,3).

Aunque se considera un síndrome drepanocítico más leve, se asocia con morbilidades potencialmente graves que justifican la vigilancia y la intervención médica. En general la clínica es menos severa que en la hemoglobinopatía SS homocigota (menores fenómenos de oclusión de vasos, menos crisis dolorosas) pero hay afectación de otros sistemas como problemas auditivos, necrosis ósea, y especialmente a nivel ocular, destacando la retinopatía proliferativa, hemorragia del vítreo, y desprendimiento de retina, perjudicando aproximadamente al 30-70 % de los pacientes (se recomiendan revisiones oftalmológicas anuales a los niños a partir de 10 años de edad) (6).

Una de las complicaciones que puede ocurrir de forma espontánea en la anemia falciforme, y que a veces puede ser el primer síntoma de la enfermedad es la denominada crisis de secuestro esplénico, que se define como la disminución aguda de Hb de al menos 2 g/dL, esplenomegalia, trombocitopenia y reticulocitosis compensadora. La clínica se caracteriza por instauración brusca de decaimiento, dolor y distensión abdominal, palidez y aumento brusco del tamaño del bazo como consecuencia del atrapamiento de sangre, con descenso de la Hb. En los casos graves se asocian signos de compromiso hemodinámico: taquicardia, hipotensión y letargia, con rápida evolución a shock hipovolémico. Se considera una emergencia médica, ya que los episodios graves pueden tener una evolución fatal en pocas horas. La mayoría de los episodios se producen antes de los 5 años, y el pico de incidencia se encuentra entre los 3 meses y 2 años. La tasa de recurrencia tras un primer episodio es del 50-75%. Constituye la segunda causa de muerte en menores de 10 años, después de las infecciones. La prevalencia es menor en pacientes con fenotipo SC, afectando a un 6-12 % de los niños. No se ha encontrado ningún factor desencadenante, por lo que no pueden establecerse estrategias preventivas (7).

El tratamiento consiste en la transfusión de hematíes muy urgente, profilaxis con antibióticos (independientemente del estado de vacunación del paciente) y, en ocasiones, se requiere realizar una esplenectomía si el cuadro no mejora. Es muy importante concienciar a los pacientes y a la familia de que este fenómeno puede ser recurrente, sobre todo en los primeros 12 meses de la aparición del primer episodio, advirtiendo de la necesidad de acudir rápidamente a un centro hospitalario en caso de presentar fiebre, decaimiento o esplenomegalia (8,9).

Por otro lado, son frecuentes las crisis aplásicas en el seno de hemoglobinopatías y anemias hemolíticas crónicas, y suelen ser secundarias a déficit de ácido fólico o infecciones víricas, principalmente a Parvovirus B19. La insuficiencia eritroide medular puede causar rápidamente una anemia intensa y clínica de insuficiencia cardíaca, hipoxia y fallo cardiovascular. También pueden disminuir las demás series y provocar aplasia medular. Clínicamente, se manifiesta con palidez, astenia, irritabilidad y taquicardia. Aunque a veces la infección es subclínica, pueden referir como antecedente un episodio febril con dolor abdominal, diarrea,

artralgias, mal estado general y exantema. El episodio suele revertir espontáneamente en 2-14 días (10).

Es indiscutible que el laboratorio clínico juega un papel fundamental en el diagnóstico de las hemoglobinopatías, y las guías clínicas internacionales recomiendan utilizar la combinación de dos técnicas diagnósticas distintas para un diagnóstico definitivo. En la actualidad, el método de cribado "gold standard" es la HPLC ampliamente utilizada por ejemplo en la dosificación de HbA1c en el diagnóstico y seguimiento de la diabetes; el test de falciformación confirma la presencia de HbS, y el diagnóstico definitivo puede obtenerse por electroforesis de Hb o estudios moleculares (3).

CONCLUSIONES

- Describimos el caso de doble heterocigosis HbSC como un ejemplo de patología poco conocida en nuestro medio, pero que resulta esencial reconocer por sus implicaciones clínicas.
- La hemoglobinopatía SC es un tipo de anemia falciforme menos grave que la hemoglobinopatía S homocigota y su diagnóstico suele ser tardío; no obstante, el diagnóstico puede precipitarse por complicaciones agudas como el secuestro esplénico.
- La serología positiva por Parvovirus B19 puede explicar una posible crisis de anemia aplásica asociada, lo que puede agravar aún más la propia anemia hemolítica de la hemoglobinopatía SC.
- Es importante enfatizar la importancia de la visualización del frotis de sangre periférica: la presencia de dianocitos y hematíes irregulares en forma de quilla de barco pueden orientar el diagnóstico en una situación de emergencia clínica.
- Destacar que es posible realizar el diagnóstico o la sospecha de este tipo de hemoglobinopatías con los medios disponibles en hospitales sin gran especialización o sofisticación de medios técnicos, mediante la realización del hemograma, bioquímica, frotis sanguíneo, HPLC y test de falciformación.
- Es fundamental establecer una estrategia multidisciplinar de colaboración y formación entre las distintas áreas de diagnóstico en el laboratorio en el estudio de las hemoglobinopatías.

BIBLIOGRAFÍA

1. González Fernández FA, Martín Núñez G. Hemoglobinopatías. Talasemias. En: Moraleda Jiménez JM. Pregrado de Hematología. Ed. Luzán 5. Madrid. 2017. p. 123-55.
2. Molina MA. Aplicación de técnicas de análisis hematológico al estudio de la serie roja. En: Mérida F.J., Moreno E.E. Manual para Técnico Superior de Laboratorio Clínico y Biomédico. Ed. Médica Panamericana. Madrid. 2015. p. 1043-62.
3. Bain, BJ. Haemoglobinopathy Diagnosis. 3 ed. UK. Wiley Blackwell; 2020. p. 222-8.
4. Gualandro SF, Fonseca GH, Yokomizo IK, Gualandro DM, Suganuma LM. Cohort study of adult patients with haemoglobin SC disease: clinical characteristics and predictors of mortality. *Br J Haematol.* 2015; 171(4): 631-7.
5. Rezende PV, Santos MV, Campos GF, Vieira L, Souza MB, Belisário AR et al. Clinical and hematological profile in a newborn cohort with hemoglobin SC. *J Pediatr (Rio J).* 2018; 94(6): 666-72.
6. Pecker LH, Schaefer BA, Luchtman-Jones L. Knowledge insufficient: the management of haemoglobin SC disease. *Br J Haematol.* 2017; 176(4): 515-26.
7. SEHOP. Enfermedad de células falciformes. Guía de práctica clínica. Ed. CeGe. 2019.
8. Uptodate. [Internet]. Elliott Vichinsky, MD. Overview of variant sickle cell syndromes. 2020 [Nov 2020; Dic 2020]. Disponible en: <http://www.uptodate.com/>.
9. Subbannan K, Ustun C, Natarajan K, Clair B, Daitch L, Fields S et al. Acute splenic complications and implications of splenectomy in hemoglobin SC disease. *Eur J Haematol.* 2009; 103(3): 258-60.
10. Leoz Gordillo I, Pérez Suárez E. Crisis aplásica por Parvovirus B19 y virus de Epstein-Barr en paciente con esferocitosis hereditaria. *An Pediatr (Barc).* 2015; 82(1): e102-7.