



Fundación  
**J. L. Castaño**

Para el desarrollo del Laboratorio clínico

## CASOS CLÍNICOS DE HEMATOLOGÍA

Ed Cont Lab Clín; 31: 85 - 95

# SEQC<sup>ML</sup>

Sociedad Española de Medicina de Laboratorio

## 2016-2017

## PACIENTE DE 72 AÑOS ACUDE A URGENCIAS POR DIFICULTAD PARA ARTICULAR LENGUAJE.

***Dra Eloísa Urrechaga.***

*Laboratorio Core. Hospital Galdakao Usansolo. Osakidetza, Servicio Vasco de Salud*

### EXPOSICIÓN DEL CASO

**Historia clínica:** paciente varón de 72 años no bebedor, no fumador y con antecedentes de prostatismo, acude a Urgencias por un cuadro brusco de laxitud y debilidad generalizada con palidez cutánea y dificultad para articular el lenguaje sin referir clínica neurológica focal asimétrica en miembros; su mujer refiere una desviación temporal de la comisura bucal.

**Exploración física:** Consciente, orientado, colaborador, buen estado general, sin fiebre y TA 112/64. El paciente respira con normalidad. Cara y cuello: pares craneales, pupilas, campimetría y fondo de ojo normales. No meningismos ni soplos laterocervicales: tono, fuerza, coordinación apendicular, reflejos, sensibilidad, y marcha normales.

**Exploraciones complementarias:** la analítica de urgencia (Hemograma, Coagulación y Bioquímica básicas), no presenta alteraciones en ningún parámetro, excepto una leve anemia con valores de Hemoglobina (Hb) 121 g/L.

El paciente ingresa en el Servicio de Neurología. El enfermo no presenta cefalea, disminución del nivel de atención, dolor torácico, disnea, palpitaciones ni focalidad organotópica a otro nivel. Al ser valorado al día siguiente al ingreso el enfermo se encontraba en situación basal con exploración neurológica normal.

**Evolución:** el paciente, ingresado por un episodio clínicamente vasovagal, sin apreciarse en ningún momento focalidad neurológica deficitaria, por lo que recibe el alta médica, para control en su centro de salud.

Nueve meses después el paciente acude de nuevo a Urgencias, ya que refiere disminución de fuerza en extremidades derechas con desviación de la comisura bucal de aproximadamente 30 minutos de duración.

En Urgencias se activó el "código ictus" siendo en ese momento la escala NIH de 7, y tras nueva valoración media hora después. el déficit va regresando con escala NIH de 2, por lo que se desactiva el "código ictus".

Ingresa en Neurología. Una vez ingresado presenta un nuevo episodio de similares características y unos 5' de duración. Posteriormente asintomático. No cefalea ni otra clínica asociada.

**Exploración física:** Tª 36 °C, TA 120/70. Bien hidratado y perfundido. Eupneico. Cabeza y cuello: no soplos.

**Exploración neurológica:** pupilas isocóricas y normorreactivas. Campimetría por confrontación normal. Pares craneales normales. Fuerza y sensibilidad conservada. Reflejos bilateral y simétricos. RCP flexores. No disimetrías. Lenguaje fluido y coherente. No rigidez de nuca.

## Analítica

Glucosa 90 mg/dL, Urea 36 mg/dL, creatinina 1,04 mg/dL, Ac Úrico 6,8 mg/dL, Proteínas totales 6,8 g/dL, Sodio 141 mEq/L, Potasio 4,6 mEq/L, Calcio 9,12 mg/dL, Colesterol 185 mg/dL, Triglicéridos 210 mg/dL, Bilirrubina 1,3 mg/dL, AST 27 U/L, ALT 30 U/L, Gamma GT 22 U/L, Fosfatasa alcalina 61 U/L.

VSG 9 mm/hora.

Leucocitos  $5,1 \times 10^3/\mu\text{L}$ , Hematíes  $4,11 \times 10^6/\mu\text{L}$ , Hemoglobina 120 g/L, Hematocrito 36 %, MCV 84,8 fL, MCH 29,6 pg, MCHC 330 g/L, RDW 13,6 %, Plaquetas  $255 \times 10^3/\mu\text{L}$  MPV 7,5 fL. Fórmula leucocitaria normal y leve reticulocitosis (3,5 %,  $144 \times 10^3/\mu\text{L}$ ).

T protrombina 90 %, APTT 33 segundos.

TAC craneal (urgencias) presenta infarto lacunar en cápsula interna derecha.

Angio RMN intracraneal circulación normal, con focos de isquemia antigua.

## Evolución y tratamiento

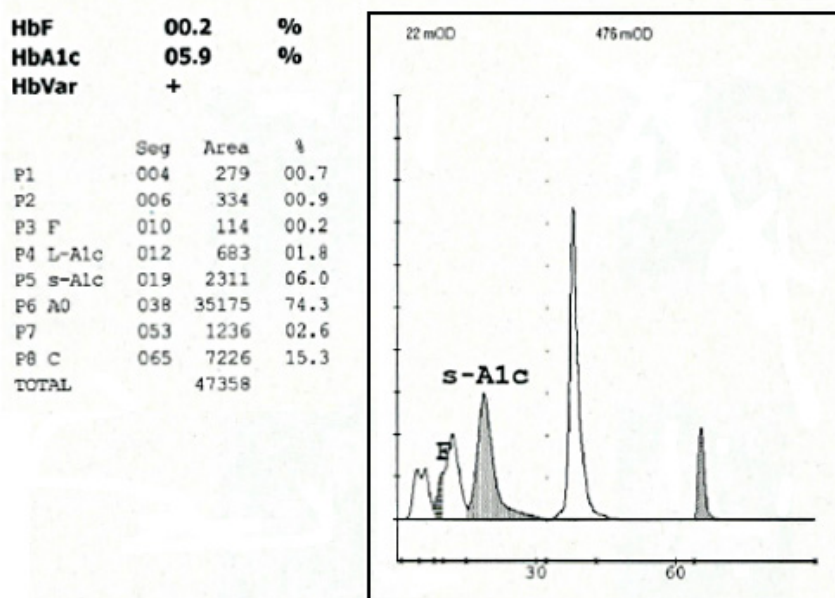
El paciente ha presentado episodios sincopales y de ataque isquémico transitorio; (AIT). Al permanecer asintomático sin nuevos episodios es dado de alta con tratamiento antiagregante (Tromakyt 300).

Durante dos años acude a revisiones en Consulta de Neurología, manteniéndose estable y con buena evolución.

En un control rutinario el médico de familia, ante una elevación de la glucemia (120 mg/dL), solicita la determinación de HbA1c para el diagnóstico de Diabetes Mellitus; en este

análisis se produce un hallazgo casual de una Hemoglobina variante, con una proporción del 16 %, lo que hace sospechar que la Hb variante deriva de una mutación en los genes alfa.

Se remite globina al Laboratorio de Referencia, para secuenciación de dichos genes e identificación de la Hb variante.



**Figura 1:** Cromatograma obtenido con un analizador ARKRAY ADAMS™ A1c HA-8180 modo Variant (Menarini Diagnostics, Florencia, It) en el que se aprecia la presencia de una banda de Hb variante (16 %) y que el sistema clasifica como Hb C, por tener un tiempo de elución similar.

El resultado del estudio genético es una mutación en el codón 94 del gen alfa2 GAC>TAC, Asp>Tyr, que corresponde a la Hb Setif.

## ATAQUE ISQUÉMICO TRANSITORIO

Los síntomas del ataque isquémico transitorio (AIT) pueden incluir pérdida temporal de la visión (por lo general amaurosis fugaz), afasia, hemiparesia, parestesia, usualmente en un lado del cuerpo. Los síntomas y signos sugestivos de AIT son:

- Déficit motor, sensitivo o ambos
- Otras alteraciones motoras (ataxia, descoordinación, temblor)
- Alteraciones del lenguaje
- Disfunciones corticales (amnesia, agnosia, apraxia, confusión ,demencia)
- Vértigos, mareos
- Crisis epilépticas
- Cefalea
- Náuseas y vómitos
- Signo meníngeos o de Babinski

Un accidente isquémico transitorio es diferente del accidente cerebrovascular. Después de un AIT, el bloqueo se rompe rápidamente y se disuelve. Un AIT no provoca la muerte del tejido cerebral.

La pérdida del flujo de sangre en una zona del cerebro puede ser causada por la presencia de un coágulo (en una arteria del cerebro o que llega desde otro órgano , pe corazón) o por una lesión en los vasos sanguíneos y/o su estenosis

Las causas más frecuentes de enfermedad cerebro vascular son:

- Trombosis arteroesclerótica
- Hemorragia cerebral hipertensiva
- Crisis isquémica transitoria
- Embolismo
- Rotura de aneurismas o malformación artero-venosa
- Vasculitis
- Tromboflebitis
- Alteraciones hematológicas Policitemia, púrpura trombocitopénica)
- Traumatismos de la arteria carótida
- Aneurisma aórtico disecante
- Hipotensión sistémica
- Jaqueca con déficit neurológico

Los siguientes factores pueden predecir un mayor grado de susceptibilidad a tanto de un AIT y como de isquemia:

- Hipertensión artero-venosa
- Diabetes
- Obesidad e inactividad física
- Consumo de tabaco, alcohol y/o drogas
- Hiperhomocistinemia
- Fibrinógeno elevado
- Anticuerpos antifosfolípido
- Anticonceptivos orales
- Edad avanzada
- Factores hereditarios
  - o Raza
  - o Anomalías congénitas del corazón
  - o Anemia falciforme

Los estudios que se realizan para confirmar el diagnóstico de AIT y para ayudar a identificar sus causas incluyen:

1) Analítica completa, con pruebas de coagulación y hemograma completo. Se pueden incluir estudio de Hemoglobinas, para descartar o confirmar las causas subyacentes de los ataques isquémicos como la diabetes o la anemia de células falciformes.

2) Radiodiagnóstico, que puede incluir las siguientes técnicas:

- Tomografía computarizada o resonancia magnética del cerebro. Un accidente cerebrovascular mostrará cambios en estos exámenes, pero no los AIT.
- Angiografía por tomografía computarizada o una angiografía por resonancia magnética para ver cuál vaso sanguíneo está bloqueado o sangrando.
- Ecocardiografía, si hay sospecha de que el coágulo de sangre proveniente del corazón.
- Un dúplex carotídeo (ecografía) puede mostrar estenosis de las arterias carótidas.

## Tratamiento

El tratamiento consiste en el uso de antiagregante plaquetarios para disminuir el riesgo de eventos vasculares. Ácido Acetilsalicílico y / clopidogrel

Puede ser que algunas personas que presentan obstrucción de las arterias del cuello necesiten cirugía (endarterectomía carotídea).

Para reducir el riesgo de recurrencia, los pacientes se les recomienda cambios de estilo de vida que pueden ayudar a prevenir un accidente cerebrovascular grave, que incluyen dejar de fumar, perder peso, comer más frutas y verduras y hacer ejercicio con regularidad.

Excepto por el sexo y la edad, el paciente no presentaba los factores de riesgo para AIT antes mencionados.

El paciente no presentaba alteraciones en los estudios de coagulación, por lo que se descartó un estado de hipercoagulabilidad. Las pruebas de coagulación normales descartan el Síndrome anti-fosfolípido. La hipercolesterolemia y la diabetes fueron asimismo descartadas.

Las alteraciones en el hemograma fueron menores, con ligera anemia y reticulocitosis, junto con bilirrubina y LDH elevadas, son sugestivos de una hemólisis, pero al ser considerada leve, no se valoró clínicamente.

Se han encontrado más de 1600 Hb variantes estructurales; su identificación presuntiva se realiza con técnicas de separación como cromatografía, electroforesis o electroenfoque. La identificación definitiva requiere técnicas moleculares o espectrometría de masas.

## BIBLIOGRAFIA

**Wajcman H, Belkhodja O, Labie D.** Hb Setif: Gl (94)  $\alpha$  Asp > Tyr a new  $\alpha$  chain hemoglobin variant with substitution of the residue involved in a hydrogen bond between unlike subunits. FEBS Lett 1972; 27:298-300.

**Aubert JP, Druft F, Rousseaux J, Loucheux-Lefebvre MH.** Comparison between human normal and setif haemoglobins by circular dichroism and differential absorption studies. FEBS Lett 1977; 84 (2): 375-378.

**Charache S, Raik E, Holtzclaw D, Hathaway PJ, Powell E, Fleming P.** Pseudosickling of Hemoglobin Setif. Blood 1987; 70: 237-242.

**De Pablos JM, De las Nieves MA, Romero A, Jurado M, Garcia A, Moo Penn WF.** Hemoglobin Setif (Alpha 94(G1) Asp>Tyr) in a spanish family. Sangre (Barc) 1990; 35 (3): 201-204.

**Switzer JA, Hess DC, Nichols FT, Adams RJ.** Pathophysiology and treatment of stroke in sickle-cell disease: present and future. The Lancet Neurology 2006; 5 (6):501-512.

**Bess CD, Krause MA.** Abnormal PfEMP1/knob display on Plasmodium falciparum-infected erythrocytes containing hemoglobin variants: fresh insights into malaria pathogenesis and protection. Microbes Infect. 2012 14(10):851-862.

**Rhea JM et al.** Impact of Hemoglobin variants on HbA1c interpretation: Do we assume too much? Med Lab Obser 2012; 6: 8-14.

**Urrechaga E.** Incidental Detection of Hb Disorders During HbA1c Analysis. Journal of Diabetes Science and Technology 2015; 9(3): 713.

**Da Q, Teruya M, Guchhait P, J Teruya, Olson JS, Cruz MA.** Free hemoglobin increases von Willebrand factor-mediated platelet adhesion in vitro: implications for circulatory devices. Blood 2015; 126:2338-2341.

## RESOLUCIÓN DEL CASO

### Foro de discusión

La prevalencia de hemoglobinopatías en nuestro medio continúa incrementándose, por lo que el hallazgo casual de una Hb variante durante un control de HbA1c (utilizando métodos de separación, cromatografía o electroforesis) no resulta infrecuente.

La detección de una variante es relevante, no sólo por su potencial interferencia en la cuantificación de HbA1c y en la correcta interpretación de los resultados.

Resulta imperativo informar del hallazgo al clínico, y en su caso, continuar los estudios para la identificación de la Hb.

Las hemoglobinopatías son las enfermedades monogénicas más comunes en humanos. Alrededor del 7 % de la población mundial es portadora y un 2,7 % de los nacimientos están afectados por hemoglobinopatías. Estas alteraciones de la hemoglobina son tradicionalmente endémicas entre las poblaciones originarias de Europa del Sur, África, Oriente Medio y Asia. Debido a las migraciones, estas alteraciones de la hemoglobina aparecen en la actualidad frecuentemente en todo el mundo.

Las variantes de la hemoglobina y las talasemias son dos anomalías de la hemoglobina genéticamente distintas. Las talasemias se caracterizan por una síntesis reducida de la cadena normal de globina debido a deleciones o mutaciones génicas. Las variantes de la hemoglobina son causadas por sustituciones de aminoácidos en cualquier cadena de globina. Se han caracterizado más de 1.600 variantes de la hemoglobina pero sólo algunas son comunes: Hb S, Hb C, Hb E y Hb D-Punjab.

Los métodos para la determinación de Hb variantes incluyen el hemograma completo y un estudio de la morfología eritrocitaria en sangre periférica.

Electroforesis y cromatografía de alta resolución son actualmente los principales métodos empleados en los laboratorios clínicos para la identificación de variantes.

Métodos de separación basados en la carga, como cromatografía de intercambio iónico, electroforesis (tradicionalmente en gel, a pHs ácido y alcalino, actualmente capilar), iso-electroenfoque.

Específicas son el test de solubilidad, la falciformación para Hb S y también Hb Setif, test de propanol, para Hb inestables.

Estos métodos no proporcionan la caracterización definitiva de la variante de Hb, especialmente aquellas en las que la sustitución de aminoácidos no supone cambio en la carga neta de la molécula de Hb.

La identificación definitiva consiste en el estudio de la mutación subyacente y hasta hace poco se llevaba a cabo empleando técnicas moleculares. Recientemente se ha descrito una

estrategia para la caracterización definitiva y rápida de variantes mediante espectrometría de masas (ESI-MS).

En nuestro caso, y previa autorización del paciente, fue necesaria la secuenciación del gen, para caracterizar la mutación e identificación definitiva de la variante.

Trastornos hereditarios de la Hb se asocian con un efecto protector contra la malaria, que se traduce en una mayor prevalencia en zonas endémicas de malaria. Migraciones de grupos étnicos provenientes dichas áreas resultan en un marcado aumento de la prevalencia de hemoglobinopatías en España.

Nuestra zona, País Vasco, se considera un región de baja prevalencia de los trastornos de la Hb, pero la presencia de estas enfermedades se ha incrementado en nuestra zona debido a la inmigración; el número de variantes de Hb detectadas incidentalmente durante el análisis de HbA1c aumenta en paralelo.

Los mecanismos moleculares mediante los cuales la población de zonas endémicas de malaria está protegida contra una infección fatal del parásito, por la presencia Hb S, HbC,  $\alpha$  talasemia o HbF, no están completamente dilucidados.

Estudios experimentales y epidemiológicos han sugerido que el acortamiento de la vida media de los eritrocitos por la presencia de dichas anomalías es el factor determinante, al restringir el crecimiento de los parásitos; recientemente se ha postulado que las Hb variantes afectan a la cito-adherencia de los eritrocitos infectados a las células del endotelio microvascular, crucial para la supervivencia del plasmodium y las patogénesis de la malaria en humanos.

Hb Setif se ha encontrado en poblaciones en Argelia, Irán, Líbano, Arabia Saudí, Turquía, Italia, Malta y Chipre; se detectó por primera vez en España en 1990.

La Hb Setif se caracteriza por la sustitución en alfa 94 (G1) Asp > Tyr. Este cambio se asocia con características fisicoquímicas anormales de la molécula especialmente una afinidad por el oxígeno alterada y menor solubilidad que la HbA<sub>0</sub>. La forma oxigenada es inestable presenta una fuerte tendencia a polimerizar, causando falciformación de la célula.

La sustitución de Asp por Tyr induce un cambio de la estructura secundaria de la secuencia, originándose una conformación en hoja beta. Estructuras de hoja beta son bien conocidas a dar interacciones hidrofóbicas bastante estables, esto puede resultar en enlaces anormales entre subunidades o moléculas de Hb anormales.

Esta interacción en la Hb Setif causa agregación entre dos cadenas alfa, lo que produce un dímero  $\alpha_1\alpha_1$ , en lugar de  $\alpha_1\beta_2$  típico de HbA<sub>0</sub>.

El hecho de que el residuo modificado de Hb Setif participe en un enlace involucrado en la transición de oxi-desoxi es la base molecular de la baja afinidad por el oxígeno e inestabilidad del tetrámero en la conformación oxigenada.



La sustitución Asp por Tyr altera el enlace de Hidrógeno que estabiliza la forma oxi pero no la deoxi de la molécula.

Este punto de contacto entre las subunidades sufre cambios drásticos durante la transición de la forma oxi a la deoxi: Los enlaces de hidrógeno entre Asn G4 (102)  $\beta$ 2 and Asp G 1(94)  $\alpha$ 1 es la única interacción polar a través de la interfaz  $\alpha$ 1 $\beta$ 2 en la conformación normal de la oxihemoglobina, el resto de las interacciones son no polares.

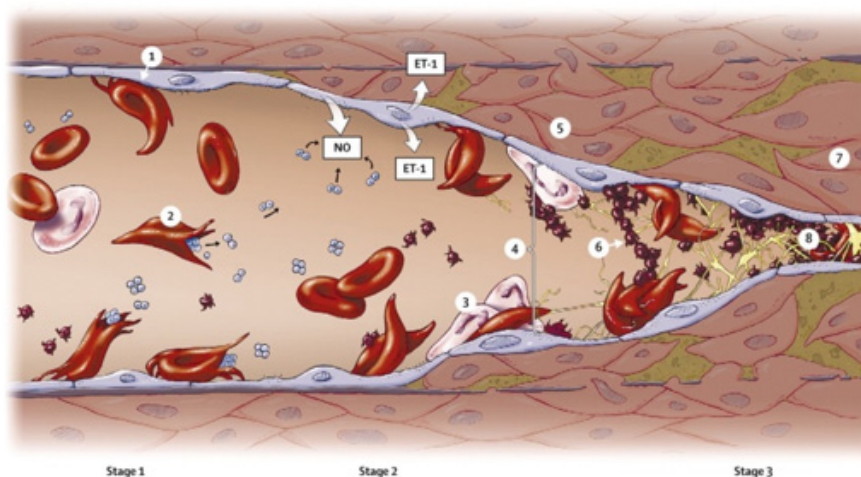
A pesar de ser una Hb inestable y con funcionalidad alterada, los trastornos intraeritrocitarios son menores que los encontrados en caso de defecto en los genes  $\beta$ , debido al menor porcentaje de globina alterada, por la duplicación de los genes  $\alpha$ .

Desde el punto de vista genético, dos características a destacar: este mutante presenta mutación en cadena  $\alpha$ , mucha menor frecuencia que mutantes de cadena  $\beta$ . En segundo lugar, la sustitución de Asp por Tyr conduce a un cambio drástico en la polaridad y el impedimento estérico. El código genético evita que tales sustituciones sucedan con frecuencia.

Pseudofalciformación ocurre al generarse haces de fibras retorcidas. Esas fibras (y estados tempranos de agregación molecular) aumentan la rigidez de la célula y en esperaría encontrar infartos en ambiente reductor, hipóxico e hipertónico similares a los observados en la enfermedad de células falciformes por HbS.

La apariencia es estas células deformadas no recuerdan a las auténticas células falciformes, sino que parecen cilindros retorcidos unidos en haces.

La pseudofalciformación ocurre in vitro, no se ha demostrado in vivo, a diferencia de la anemia falciforme.



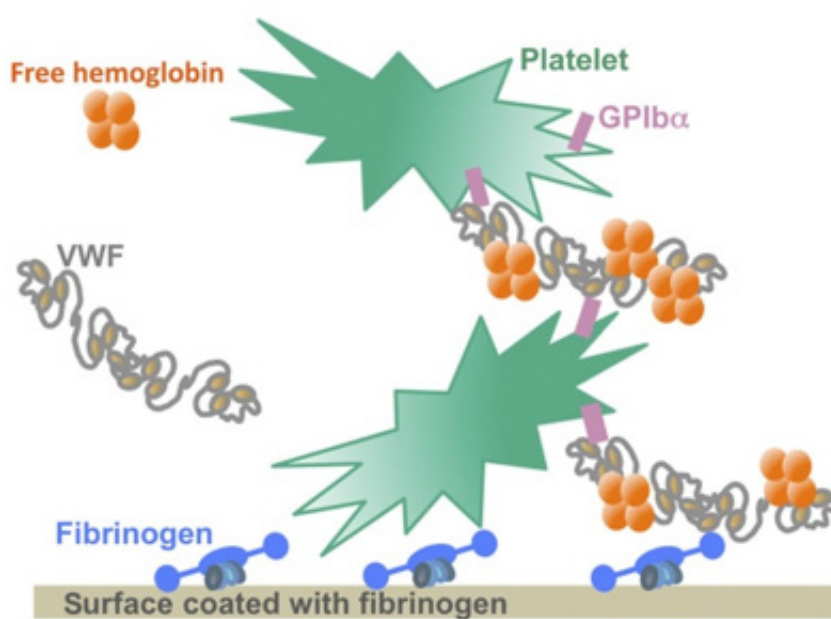
**Figura 2:** Oclusión de vasos causada por la morfología alterada de los eritrocitos falciformes: la adherencia anormal al endotelio, adherencia plaquetaria y agregación leucocitaria.

Los dímeros de Hb libre disparan la producción de endotelina y NO; el estrechamiento luminal es secundaria a la proliferación de células musculares lisas y fibroblastos, con resultado final de vasculopatía y obstrucción. Tomada de Switzer JA, Hess DC, Nichols FT, Adams RJ. *Pathophysiology and treatment of stroke in sickle-cell disease: present and future. The Lancet Neurology* 2006; 5 (6):501-512.

Los eritrocitos con morfología alterada por su mayor rigidez celular pueden contribuir a la patogénesis del accidente vascular: interacciones anormales con el endotelio vascular, con una adherencia anormal y con resultado de hemólisis; este es un estado proinflamatorio manifestado, en parte, por adherencia plaquetaria y agregación leucocitaria.

Otros mecanismos deben ser considerados. Las hemoglobinopatías se caracterizan por producir hemólisis (aguda y/o crónica), y por lo tanto el efecto de la Hb libre puede ser primordial en la patogenia del ictus.

El estudio de la hemólisis intravascular ha conducido recientemente al descubrimiento de un nuevo mecanismo de activación plaquetaria inducida por Hb libre. La Hb libre interactúa con el factor de von Willebrand (VWF), lo que incrementa la afinidad del dominio A1 de VWF por el receptor de glicoproteína Ib (GPIb) de la superficie de las plaquetas. Este aumento en las interacciones entre plaquetas y VWF permite la unión de éstas con fibrinógeno o con componentes de la matriz extracelular, como el colágeno, lo que constituye un estado pre-trombótico.



**Figura 3:** Nuevo mecanismo de activación plaquetaria inducida por Hb libre, propuesto por Q Da et al.

La Hb libre interactúa con el factor de von Willebrand (VWF), aumentando en las interacciones entre este y las plaquetas, lo que facilita la unión con el fibrinógeno.

Tomada de Da Q, Teruya M, Guchhait P, JTeruya, Olson JS, Cruz MA. *Free hemoglobin increases von Willebrand factor-mediated platelet adhesion in vitro: implications for circulatory devices.* *Blood* 2015; 126:2338-2341.

## A recordar

El hallazgo fortuito de Hb variantes en los estudios de diabetes es frecuente en nuestra práctica diaria. Debido a la inmigración, la HbS heterocigota es la hemoglobinopatía más frecuente en nuestra área.

El hallazgo de una Hb variante debe ser comunicado al clínico, ya que puede resultar clínicamente relevante. Además afecta a la interpretación de los resultados, no sólo por interferencia analítica, sino también porque la Hb mutada altera la vida media del eritrocito.

---

## COMISIÓN DE BIOLOGÍA HEMATOLÓGICA

Anna Merino (*Presidenta*), M<sup>a</sup> José Alcaide, Eduardo Arellano, Laura Bigorra, Cristian Morales, Javier Nieto, M.<sup>a</sup> Elena Redin, Maite Serrando, María Sanz de Pedro, Xavier Tejedor, Eloisa Urrechaga, Teresa Villalba.

## ACTIVIDADES FORMATIVAS DEL COMITÉ DE EDUCACIÓN

D. Balsells, B. Battikhi (*Residente*), R. Deulofeu, M. Gassó, N. Giménez, J.A. Lillo, A. Merino, A. Moreno, A. Peña (*Residente*), N. Rico, M. Rodríguez (*Presidente*), M.C. Villà.

ISSN 1887-6463 – Abril 2017 (recibido para publicación Marzo 2017).