

CLIN12LAB

Libro de Casos Clínicos de los Laboratorios del H12O 2022



Editores

Daniel Párraga García

Ylenia Pérez Arnaiz

Maialen Palomino Alonso

Laura Carrasco Parrón

Ana Elena López Jiménez

Editores de este volumen:

Daniel Párraga García, Ylenia Pérez Arnaiz, Maialen Palomino Alonso, Laura Carrasco Parrón, Elena Ana López Jiménez

Publicado en España por:

Servicio de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica

Hospital Universitario 12 de Octubre

Av. De Córdoba, s/n, 28041 Madrid (España)

Tlf: 913 90 80 00

<https://www.comunidad.madrid/hospital/12octubre/profesionales/servicios-centrales/analisis-clinicos>

<https://www.comunidad.madrid/hospital/12octubre/profesionales/servicios-centrales/bioquimica-clinica>

Imagen de portada**ISBN:**

Madrid (España), 2022

CLIN12LAB

Libro de Casos Clínicos de los Laboratorios del H12O 2022

Editores

Daniel Párraga García

Ylenia Pérez Arnaiz

Maialen Palomino Alonso

Laura Carrasco Parrón

Elena Ana López Jiménez

Servicio de Análisis Clínicos y Bioquímica Clínica

Hospital Universitario 12 de Octubre

Madrid (España)

LISTADO DE EDITORES

Daniel Párraga García
Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid
Email: daniel.parraga@salud.madrid.org

Ylenia Pérez Arnaiz
Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid
Email: ylenia.perez@salud.madrid.org

Maialen Palomino Alonso
Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid
Email: maialen.palomino@salud.madrid.org

Laura Carrasco Parrón
Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid
Email: lcarrascop@salud.madrid.org

Elena Ana López Jiménez
Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid
Email: elenaana.lopez@salud.madrid.org

LISTADO DE COLABORADORES

Victor Felipe Sanz Fernández
Diseñador Gráfico

LISTADO DE AUTORES *(por orden alfabético)*

Ana Arteché López
Servicio de Genética
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Eva Barbón Alonso
Servicio de Análisis Clínicos
Hospital Universitario de Navarra, Pamplona

Adoración Blanco Álvarez
Servicio de Hematología y Hemoterapia
Hospital Universitario Vall d'Hebron, Barcelona

Alberto Blanco Sánchez
Servicio de Hematología y Hemoterapia
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Víctor Antonio Blanco Palmero
Servicio de Neurología
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Alberto Blázquez Encinar
Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Patricia María Brañas García
Servicio de Microbiología y Parasitología
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Buenaventura Buendía Ureña
Servicio de Hematología y Hemoterapia
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Jesús Cábanes Madrid
Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Fernando Calvo Boyero
Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Laura Carrasco Parrón
Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Gonzalo Carreño Gómez-Tarragona
Servicio de Hematología y Hemoterapia
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Maria Poza Santaella
Servicio de Hematología y Hemoterapia
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Nerea Castro Quismondo
Servicio de Hematología y Hemoterapia
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Rafael Colmenares Gil
Servicio de Hematología y Hemoterapia
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

José Miguel Comino Cáceres
Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid
Cecilia Cueto-Felgueroso Ojeda
Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Aitor Delmiro Magdalena
Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Silvia Díaz Díaz
Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Pilar Duarte García
Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Alba María Fernández del Pozo
Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Aida Frías González
Servicio de Nefrología
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Irene García García
Servicio de Hematología y Hemoterapia
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Daniel Gil Alós
Servicio de Hematología y Hemoterapia
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Rodrigo Gil Manso
Servicio de Hematología y Hemoterapia
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Irene Gómez Manjón
Servicio de Genética
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Sandra Gómez Rojas
Servicio de Hematología y Hemoterapia
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Irene González Martínez
Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

María José González Rodríguez
Servicio de Genética
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

César David Herrera Molina
Servicio de Pediatría
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Marta Hidalgo Soto
Servicio de Hematología y Hemoterapia
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Rodrigo Íñiguez García
Servicio de Hematología y Hemoterapia
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

José Miguel Lezana Rosales
Servicio de Genética
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Ángel Camilo López Regueiro
Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Miguel Ángel Martín Casanueva
Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Sonia Mayo de Andrés
Servicio de Genética
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Ana Ortuño Cabrero
Servicio de Hematología y Hemoterapia
Hospital Universitario Vall d'Hebron

Carmen Palma Milla
Servicio de Genética
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Maialen Palomino Alonso
Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Esther Parra Virto
Servicio de Hematología y Hemoterapia
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Daniel Párraga García
Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Ylenia Pérez Arnaiz
Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Rubén Pérez de la Fuente
Servicio de Genética
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Gloria Pérez Segura
Servicio de Hematología y Hemoterapia
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Yolanda Posada Franco
Servicio de Análisis Clínicos
Hospital Clínico San Carlos, Madrid

María Poza Sataella
Servicio de Hematología y Hemoterapia
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Juan Francisco Quesada Espinosa
Servicio de Genética
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Marina Rosalía Quesada Sánchez
Servicio de Hematología y Hemoterapia
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Guillermo Ramos Moreno
Servicio de Hematología y Hemoterapia
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Raúl Recio Martínez
Servicio de Microbiología y Parasitología
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Carmen Alhena Reyes Ruiz
Servicio de Microbiología y Parasitología
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Antonia Rodríguez Izquierdo
Servicio de Hematología y Hemoterapia
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Mario Rodríguez Rodríguez
Servicio de Hematología y Hemoterapia
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

María Teresa Sánchez Calvín
Servicio de Genética
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Eva María Sánchez Morla
Servicio de Psiquiatría
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

José María Sánchez Pina
Servicio de Hematología y Hemoterapia
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Julia Sanz Gómez
Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Emma Soengas Gonda
Instituto de Investigación del Hospital 12 de Octubre

Centro de Investigación Biomédica en Red en
Enfermedades Raras (CIBERER), Madrid

Esther Tamayo Hernández
Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Beatriz Villanueva Iribarren
Servicio de Análisis Clínicos
Hospital Universitario de Navarra, Pamplona

Denis Zafra Torres
Servicio de Hematología y Hemoterapia
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Irene Zamanillo Herreros
Servicio de Hematología y Hemoterapia
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

PRÓLOGO

Es para mí un inmenso placer presentar esta nueva edición. Han pasado dos años desde que cesé en mi actividad como Analista Clínico. Fuí Jefe de Sección del Servicio de Análisis Clínicos y Coordinadora de Calidad de los Laboratorios del Hospital 12 de Octubre, por lo que me considero muy unida a los Laboratorios Clínicos de mi hospital y a sus profesionales.

Hace dos años, los Servicios Centrales del Hospital Universitario 12 de Octubre lanzaron la primera edición del libro CLIN12LAB Libro de Sesiones de los Laboratorios Clínicos, con la intención de divulgar los contenidos formativos impartidos en sus sesiones internas. Este año amplían horizontes con la elaboración de un libro dedicado a los casos clínicos.

Esta primera edición del Libro de Casos Clínicos de los Laboratorios del H12O está dedicada exclusivamente a casos clínicos estudiados en los Servicios Centrales. La variedad de los temas que se han tratado es muy amplia e incluye a todos los servicios de laboratorio.

Son muchos los profesionales que con su trabajo e ilusión han hecho posible esta nueva edición. Les agradecemos el interés y grado de implicación que han mostrado.

Con nuestros mejores deseos, esperamos que disfrutéis de su lectura

Dra. Laura Parés Pollán.
Jefa de sección de Análisis Clínicos-Bioquímica
Coordinadora de Calidad de los Laboratorios de H.U. 12 de Octubre

ÍNDICE DE CONTENIDOS

BLOQUE I ENFERMEDADES AUTOINMUNES.....	16
1-IMPORTANCIA DEL LABORATORIO EN EL DIAGNÓSTICO DE MENINGITIS REUMATOIDE	17
BLOQUE II GENÉTICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR.....	22
2-NEONATO CON HIPOGLUCEMIA HIPERINSULINÉMICA REFRACTARIA AL TRATAMIENTO.....	23
3-HIPERAMONEMIA NEONATAL.....	29
4-SÍNDROME DE CAPOS: VARIANTE RECURRENTE EN <i>ATP1A3</i>	35
5-SÍNDROME DE KUFOR-RAKEB: DIAGNÓSTICO MULTIDISCIPLINAR INTEGRADO	40
6- SÍNDROME MANO-PIE-GENITAL ORIGINADO POR DELECIÓN.....	45
7-SÍNDROME DE SCHEIE (MUCOPOLISACARIDOSIS TIPO I)	48
BLOQUE III GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA	52
8-INFERTILIDAD MASCULINA POR MORFOLOGÍA ALTERADA: GLOBOZOOSPERMIA	53
BLOQUE IV HEMATOLOGÍA	59
9-LA CITOLOGÍA COMO PIEDRA ANGULAR EN EL DIAGNÓSTICO DE LOS SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS.....	60
10-LA ANOMALÍA DE PELGER-HUËT EN EL LABORATORIO DE HEMATOLOGÍA: A PROPÓSITO DE UN CASO	66
11-EL ANTÍGENO RHD Y SU TIPIFICACIÓN SEROLÓGICA.....	69
12-CUANDO EL FROTIS ENCUENTRA LO QUE EL TC CRANEAL NO VE.....	74
13-ENFERMEDAD POR HEMOGLOBINA H.....	78
14-PACIENTE CON MIOCARDIOPATÍA DILATADA Y DETERIORO DE LA FUNCIÓN RENAL	82
15-PANCITOPENIA EN PACIENTE CON ANTECEDENTE DE ADENOCARCINOMA DE SIGMA.....	89
16-TUBERCULOSIS PULMONAR Y TROMBOCITOPENIA INMUNE ASOCIADA	95
17-UNA ALTERACIÓN DE LA HEMOSTASIA POR UN SOSPECHOSO POCO HABITUAL	100
18-DÉFICIT DE PIRUVATO QUINASA: UN DIAGNÓSTICO COMPLEJO.....	105
19-HEMOFILIA A ADQUIRIDA: UN RETO DIAGNÓSTICO	109
20- DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DEL LINFOMA LINFOPLASMOCÍTICO	114
BLOQUE V MICROBIOLOGÍA Y ENFERMEDADES INFECCIOSAS.....	118
21-MENINGITIS: NUNCA DIGAS NUNCA	119
22-MENINGITIS BACTERIANA AGUDA.....	123
23-HEMATURIA MACROSCÓPICA EN PACIENTE JOVEN NATURAL DE MALI.....	130
BLOQUE VI MISCELÁNEA.....	134
24- DESARROLLO Y EXPLOTACIÓN DE UNA BASE DE DATOS DE VARIANTES DEL ADN MITOCONDRIAL PROPIA (12OVAR-MITOCONDRIAL) EN EL ENTORNO DEL HOSPITAL 12 DE OCTUBRE.....	135
25-EL LABORATORIO EN EL DIAGNÓSTICO DE LAS PORFIRIAS AGUDAS	144
BLOQUE VII NEFROLOGÍA.....	150

26-CRISTALES DE 2,8-DIHIDROXIADENINA EN ORINA COMO REFLEJO DEL DÉFICIT DE LA ENZIMA ADENINA FOSFORRIBOSILTRANSFERASA	151
BLOQUE VIII ONCOLOGÍA	156
27-LINFOMA T ANAPLÁSICO ALK + Y SÍNDROME HEMOFAGOCÍTICO ASOCIADO	157
28-ADENOCARCINOMA GINECOLÓGICO CON AFECTACIÓN PERITONEAL Y PLEURAL	164
29-MESOTELIOMA: APOYO DEL LABORATORIO AL DIAGNÓSTICO DEL DERRAME PLEURAL.....	168
30-LEUCEMIA AGUDA MIELOIDE CON BLASTOS “CON HUELLA DACTILAR”	175
31-DEBUT INUSUAL DE LEUCEMIA AGUDA	179
32-VALOR DEL ESTUDIO CITOLÓGICO EN DERRAME PLEURAL DE ETIOLOGÍA DESCONOCIDA EN PACIENTE PEDIÁTRICO.....	184
BLOQUE IX PEDIATRÍA	190
33-ENFERMEDAD DE ORINA CON OLOR A JARABE DE ARCE: A PROPÓSITO DE UN CASO CLÍNICO	191

BLOQUE I

ENFERMEDADES AUTOINMUNES

1-IMPORTANCIA DEL LABORATORIO EN EL DIAGNÓSTICO DE MENINGITIS REUMATOIDE

Autores: Pilar Duarte García, Alba María Fernández del Pozo.

Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid.

Palabras clave: Artritis, Reumatoide, Meningitis.

1. INTRODUCCIÓN

La artritis reumatoide (AR) es una de las enfermedades autoinmunes más comunes en nuestro entorno. Aunque su incidencia se ha visto disminuida sustancialmente gracias a la efectividad de los tratamientos con fármacos antirreumáticos modificadores de los mecanismos de la enfermedad, esta patología afecta actualmente al 0,5 - 1% de la población mundial, siendo dos tercios de estas pacientes mujeres.

Esta enfermedad sistémica está caracterizada por la inflamación crónica de las articulaciones sinoviales y la degeneración articular progresiva, provocando en ocasiones la incapacitación física de los individuos afectados.

El diagnóstico de una AR se basa frecuentemente en sus manifestaciones clínicas y en pruebas de laboratorio como la determinación del factor reumatoide (FR) y de la proteína C reactiva (PCR). Los factores reumatoideos son un grupo heterogéneo de auto anticuerpos dirigidos contra los determinantes antigénicos del Fragmento cristizable (región Fc) de las moléculas de inmunoglobulina G (IgG). Los FR se encuentran en inmunoglobulinas de todo tipo, sin embargo, los métodos corrientes se limitan a la detección de los factores reumatoideos del tipo inmunoglobulina M (IgM). El problema que presentan la PCR y el FR como biomarcadores de AR es que la PCR es un marcador general de inflamación, mientras que los FR también pueden aparecer en otras enfermedades reumáticas inflamatorias, así como en diferentes enfermedades no reumáticas. Otra dificultad que se presenta en su diagnóstico es que el FR, puede asimismo manifestarse en personas mayores de 60 años clínicamente sanas.

Fuera de estos casos excluyentes, la prueba de los factores reumatoideos constituye un criterio diagnóstico para la clasificación de la AR según el Colegio Estadounidense de Reumatología. Recientemente se han desarrollado nuevos parámetros para la detección de anticuerpos contra el péptido cíclico citrulinado (anti-CCP), marcador que ha resultado ser altamente específico para la AR.

A pesar de que la manifestación principal en la AR es la poliartritis, también pueden presentarse signos en órganos extra articulares como corazón, cerebro o pulmón.

Una de las complicaciones que puede surgir a nivel del sistema nervioso central (SNC) es la denominada meningitis reumatoidea (MR). El diagnóstico de esta complicación neurológica asociada a AR constituye un desafío clínico debido a la amplia variedad de síntomas inespecíficos que presentan los pacientes afectados.

La relevancia de esta patología radica en que, a pesar de su baja morbilidad, presenta mal pronóstico si no se trata de manera precoz y adecuadamente.

2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

2.1 Motivo de consulta:

Mujer de 52 años, parcialmente dependiente para las actividades basales de la vida diaria que acude al servicio de Urgencias en marzo del año 2021 por inicio de un cuadro de movimientos mioclónicos arrítmicos de baja intensidad e involuntarios en ambos miembros inferiores, aunque más marcados en el miembro inferior izquierdo y en hemiabdomen y brazo izquierdo, sobre todo a nivel distal, sin disminución del nivel de consciencia ni otra clínica neurológica asociada.

Se le realiza una tomografía computarizada (TC) craneal que no muestra lesiones agudas. Ante la sospecha clínica de estatus focal motor se le ingresa a cargo del servicio de Neurología, iniciándose tratamiento con dosis plenas de levetiracetam y perfusión de valproato. Posteriormente, ante persistencia de las mioclonías, se añade lacosamida, con mejoría parcial de la clínica, aunque no llega a desaparecer. Tras la realización de un electroencefalograma (EEG) se confirma la existencia de estatus focal motor con origen parieto-temporal derecho.

2.2 Antecedentes personales:

Entre los antecedentes personales, destacan:

- Epilepsia de etiología no filiada (posiblemente genética) que debutó con tres crisis tónico-clónicas generalizadas en febrero del mismo año.
- Miocardiopatía de estrés en contexto con epilepsia no filiada que requirió ingreso en cardiología, tras lo cual queda asintomática al alta y en tratamiento con levetiracetam.
- Hipotiroidismo clínico en tratamiento sustitutivo con levotiroxina.
- Artritis reumatoide seropositiva en noviembre del año 2020 (anti-CCP: >300 UI/mL, FR: 30 UI/mL), no erosiva en seguimiento por Reumatología y tratada con dolquine y antiinflamatorios no esteroideos (AINES).
- Fiebre de origen desconocido (febrícula persistente) desde agosto del 2020, en seguimiento por Neumología.

2.3 Antecedentes familiares:

La paciente no presenta antecedentes familiares de interés.

2.4 Enfermedad actual:

La paciente presenta un cuadro de movimientos mioclónicos arrítmicos pero estereotipados de baja intensidad e involuntarios en ambos miembros inferiores (extensión brusca), aunque más marcados en el miembro inferior izquierdo y en hemiabdomen (contracciones de musculatura abdominal y tronco) y brazo izquierdo, sobre todo a nivel distal (flexión palmar), sin disminución del nivel de consciencia ni otra clínica neurológica asociada.

2.5 Exploración física:

A su llegada a urgencias la paciente muestra un buen estado general, consciente, orientada, alerta, eupneica en reposo, bien nutrida e hidratada, con coloración normal de piel y mucosas, y actitud colaboradora.

La medición de las constantes arrojó los siguientes resultados:

- Febrícula de 37,6°C (similar a su basal desde agosto del año 2020).
- Tensión sistólica 125 mmHg.
- Tensión diastólica 51 mmHg.
- Frecuencia cardíaca 79 latidos/min.
- Saturación O2 basal 96 %.

A su ingreso en la planta de Neurología se le realiza un examen de las funciones superiores más exhaustivo: la paciente sigue estando orientada en espacio y persona, sin embargo, presenta desorientación temporal (no sabe precisar día, mes ni año), se muestra inatenta (incapaz de nombrar los meses del año en sentido inverso, nombra los días de la semana con dificultad), bradipsíquica (con lentitud de pensamientos) y bradilálica (lentitud en la articulación de palabras). Lenguaje fluente, comprende y ejecuta órdenes sencillas y apendiculares complejas y nomina sin errores. Memoria de fijación conservada, memoria a corto plazo alterada (recuerda 0/3 palabras de manera espontánea y 1/3 tras pista semántica), aunque poco valorable por la inatención.

Durante la exploración motora se observan movimientos mioclónicos arrítmicos de baja intensidad en hemicuerpo izquierdo, sobre todo a nivel distal de ambos miembros, incluyendo hemiabdomen izquierdo, que se acentúan con estímulos táctiles, no especialmente con estímulos acústicos. Respecto a la sensibilidad táctil, se encuentra conservada a excepción del miembro superior izquierdo. La sensibilidad algésica y vibratoria tampoco presentan alteraciones.

3. INFORME DEL LABORATORIO

Al ingreso en el servicio de Neurología la analítica sanguínea no muestra alteraciones relevantes a excepción de una PCR elevada de 1,86 mg/dL. La función renal, el perfil hepático, los iones, el calcio, el fósforo y el magnesio se encuentran en rango.

Además se le realiza una punción lumbar, que arroja los siguientes resultados en líquido cefalorraquídeo (LCR): glucosa = 41 mg/dL, proteínas = 0,45 g/L, lactato = 1,7 mmol/L, hematíes = 0 células/ μ L y leucocitos = 10 células/ μ L.

Al evidenciarse una leptomeningitis subaguda/crónica en la resonancia magnética con contraste, se solicitan pruebas complementarias de imagen y de laboratorio para dilucidar el origen de la misma.

Las tres hipótesis etiológicas barajadas son (de mayor a menor probabilidad):

- Inflamatoria/autoinmune:
 - Origen reumatoideo (principal posibilidad dado los antecedentes).
 - Sarcoidosis.
 - Vasculitis ANCA+.
 - Enfermedad de Behçet.
 - Asociada a IgG4.
- Infecciosa crónica:
 - Criptocócica.
 - Tuberculosa.
 - *Borrelia sp.*
 - *Brucella sp.*
- Tumoral.

4. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

Los resultados arrojados en las pruebas de imagen y de laboratorio quedan reflejados en la Tabla 1.

5. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Los resultados reflejados en la Tabla 1 permitían descartar todas las hipótesis diagnósticas planteadas a excepción de la opción de la meningitis reumatoidea.

Para su confirmación se solicita al laboratorio de bioquímica la cuantificación de factor reumatoide (FR) en LCR. La determinación se realiza mediante la plataforma automatizada de Roche Diagnostic Hitachi cobas c701.

Previo a su realización se comenta con el servicio peticionario que la técnica se encuentra en la actualidad aprobada únicamente para la determinación en plasma o suero. Se acepta y se realiza en líquido cefalorraquídeo.

El principio del test se basa en una prueba inmunoturbidimétrica: en la técnica empleada el antígeno IgG inactivado por calor fijado a partículas de látex, reacciona con los anticuerpos anti-FR de la muestra, formando un complejo antígeno-anticuerpo que se mide turbidimétricamente después de la aglutinación. La muestra de LCR fue remitida al laboratorio en un tubo estéril sin anticoagulantes. El resultado arrojado fue positivo.

Como ya se ha comentado, los FR constituyen un grupo de auto anticuerpos dirigidos contra las IgG. Se encuentran en

inmunoglobulinas de todo tipo, pero los métodos corrientes se limitan a la detección de las IgM. Debido a su gran tamaño, la presencia de factor reumatoide en LCR solamente se explica por producción intratecal. Así, la detección de FR

en la muestra de la paciente, junto con el resultado positivo de anti-CCP también en LCR, permitió confirmar el caso de meningitis reumatoide.

Prueba	Muestra	Resultado
Bioquímica	Sangre	Factor reumatoide = 49 UI/mL (valor de referencia < 14 UI/mL)
	LCR	Glucosa = 41 mg/dL Proteínas = 0,45 g/L Lactato = 1,7 mmol/L
Recuento celular	LCR	Hematíes = 0 cél/μL Leucocitos = 10 cél/μL
Anti-CCP	Sangre	Positivo
	LCR	Positivo
Enzima convertidora de angiotensina (ECA)	Sangre	Normal
	LCR	Indetectable
Anticuerpos contra el citoplasma de los neutrófilos (ANCA)	Sangre	Negativo
Neuroimagen	-	No sugestivo de vasculitis
Inmunoglobulinas G4	Sangre	Normal
	LCR	Negativo
Tinción y cultivo de hongos	LCR	Negativo
Prueba de bacilos acidorresistentes (BAAR)	LCR	Negativo
Prueba de liberación del Interferón gamma (IGRA)	Sangre	Negativo
Serología	Sangre	<i>Borrelia</i> sp: Negativo <i>Brucella</i> sp: Negativo
Citometría de flujo	LCR	Normal
Marcadores tumorales	Sangre	Negativo
Tomografía por emisión de positrones (PET)	-	Sospecha de malignidad negativa

Tabla 1. Resultados de las pruebas de imagen y laboratorio solicitadas para dilucidar el origen de la leptomeningitis subaguda/crónica observada en la resonancia magnética con contraste. LCR: líquido cefalorraquídeo; Anti-CCP: anticuerpos contra el péptido cíclico citrulinado. Elaboración propia.

6. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Como ya se ha mencionado en apartados previos, al ingreso de la paciente y ante la sospecha clínica de estatus focal motor se inicia tratamiento con dosis plenas de levetiracetam y perfusión de valproato. A lo que posteriormente, ante persistencia de las mioclonías, se añade una carga de lacosamida con mejoría parcial de la clínica que no llega a desaparecer. Con la confirmación, mediante EEG, del estatus focal motor con origen parieto-temporal derecho se le pauta vía oral: levetiracetam 1500 mg y lacosamida 150 mg cada 12 horas, y carbamacepina 100-100-200 mg cada 24 horas. Con esto último se consigue el control de los síntomas, por lo que se le mantiene a lo largo de los casi 40 días de ingreso, tiempo durante el cual se van realizando las distintas pruebas mencionadas para esclarecer el origen de la leptomeningitis subaguda/ crónica evidenciada por imagen.

La hipótesis etiológica de la sarcoidosis se descarta por los niveles normales de la enzima convertidora de angiotensina (ECA) en sangre e indetectables en LCR. Lo mismo ocurre con las vasculitis asociadas a anticuerpos contra el citoplasma de los neutrófilos (ANCA+) al obtener resultados negativos de ANCA en sangre y una neuroimagen no sugestiva, así como con la enfermedad de Behçet por ausencia de clínica compatible, y la leptomeningitis asociada a Inmunoglobulinas G4 (IgG4) por los niveles normales de esta inmunoglobulina en sangre y LCR.

En relación al posible origen infeccioso de la meningitis, se intuyó poco probable desde el inicio por el recuento celular en LCR poco expresivo. Descartando finalmente una etiología criptocócica al obtener un resultado negativo en la tinción y el cultivo de hongos en LCR, así como la etiología tuberculosa por presentar la prueba de bacilos acidorresistentes (BAAR) y la prueba de liberación del

Interferón gamma (IGRA) negativos. La ausencia de positivos en las serologías de *Borrelia* sp. y *Brucella* sp. también descartaron el origen bacteriano.

Con la tomografía por emisión de positrones (PET) sin captación sospechosa de malignidad, la citometría de flujo en LCR normal y los marcadores tumorales en sangre negativos queda invalidada la hipótesis tumoral.

7. EVOLUCIÓN

Tras establecer el diagnóstico definitivo, después de 34 días de ingreso, el servicio de Neurología en consenso con Reumatología determina dar el alta e iniciar la administración de metotrexato en combinación con rituximab, en un intento de controlar tanto la artritis reumatoide como la meningitis. Para el control de los síntomas epilépticos se opta por la biterapia, retirando la carbamacepina y manteniendo el levetiracetam y la lacosamida en dosis de 1500 mg y 200 mg cada 12 horas respectivamente.

Para el seguimiento de la paciente por parte de Neurología, se le realiza una resonancia magnética 3 meses después del alta, objetivándose una mejoría, pero no desaparición de la leptomeningitis crónica reumatoidea respecto al último control (Figura 1). También se le solicita un EEG que muestra irregularidades bitemporales, más izquierdas, pero sin actividad epileptiforme y con actividad de fondo normal.

8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

Debido a la heterogeneidad de manifestaciones clínicas de la meningitis reumatoide, la variabilidad en su duración, y lo inusual de dicha patología, no se encuentra consenso en la bibliografía a la hora de guiar su diagnóstico. No habiéndose descrito aun biomarcadores específicos en LCR y teniendo

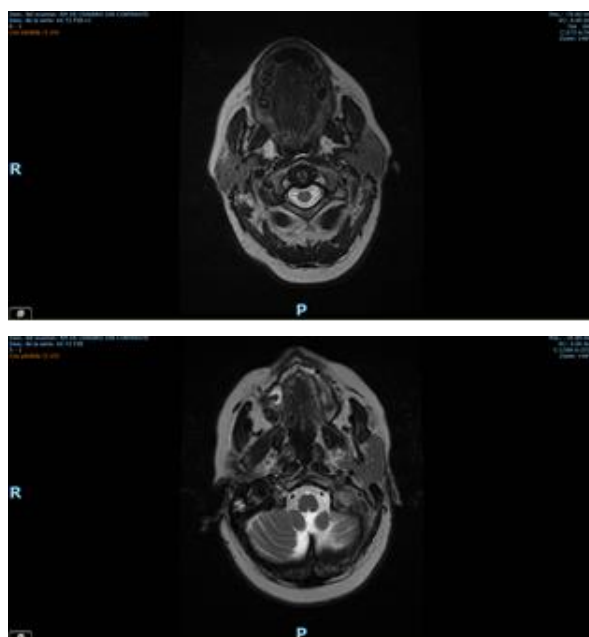


Figura 1. Comparativa de la resonancia magnética craneal sin contraste al alta (imagen superior) y 3 meses después de ésta (imagen inferior). Se observa una mejoría pero no desaparición de la leptomeningitis crónica reumatoidea.

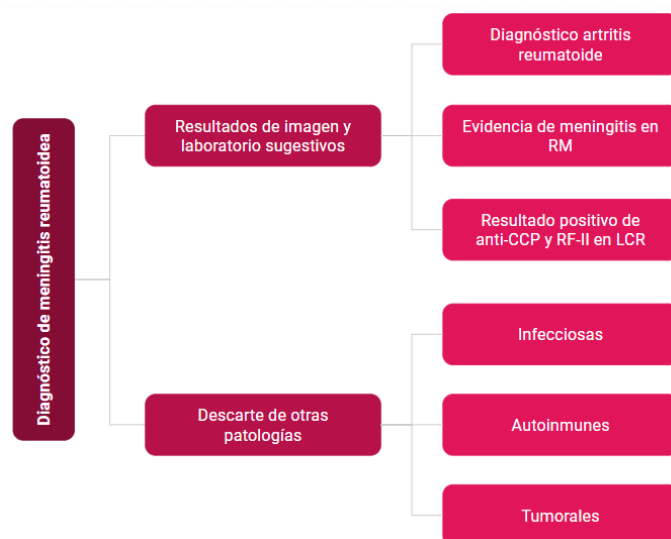


Figura 2. Esquema del algoritmo diagnóstico actual de la meningitis reumatoidea. Ante la ausencia de consenso en cuanto a clínica y biomarcadores, se opta por un enfoque de descarte de otras patologías, junto con resultados de laboratorio e imagen sugestivos. Elaboración propia.

que recurrir en ocasiones a pruebas invasivas como la biopsia cerebral sin llegar a esclarecer en muchas ocasiones la etiología. Así pues, en la mayoría de casos se alcanza un diagnóstico definitivo por descarte de otras causas de meningitis (Figura 2).

Algunos estudios proponen el empleo de los niveles de anti-CCP, IgM FR y del ligando 13 de quimiocina (CXCL-13) en LCR, no solamente como biomarcadores en el diagnóstico de meningitis reumatoide sino también como indicadores de seguimiento para la monitorización de la respuesta al tratamiento.

Tampoco existen guías ni directrices consenso claras a la hora de tratar a los pacientes con esta patología, habiéndose descrito mejoras con la administración de ciclofosfamida, metotrexato y azatioprina en combinación con corticosteroides, así como con estos últimos en monoterapia de mantenimiento.

Otro obstáculo a la hora de diagnosticar, monitorizar y tratar la meningitis reumatoide resulta del hecho de que muchos de los pacientes afectados concomitantemente con artritis reumatoide son tratados en muchas ocasiones con inmunosupresores, lo cual dificulta todo el proceso identificativo e incrementa el riesgo de sufrir meningitis asépticas o infecciones oportunistas.

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Nissen MS, Nilsson AC, Forsberg J, Milthers J, Wrenfeldt M, Bonde C, et al. Use of Cerebrospinal Fluid Biomarkers in Diagnosis and Monitoring of Rheumatoid Meningitis. *Front Neurol*. 2019;10:666.
- Osipova D, Janssen R, Martens HA. [Rheumatoid arthritis: more than a joint disease]. *Ned Tijdschr Geneesk*. 2020;164:D4166.
- Figus FA, Piga M, Azzolin I, McConnell R, Iagnocco A. Rheumatoid arthritis: Extra-articular manifestations and comorbidities. *Autoimmun Rev*. 2021;20(4):102776.
- Abe T, Shirayoshi T, Takao M. [Rheumatoid Meningitis]. *Brain Nerve*. 2021;73(5):537-543.
- Villa E, Sarquis T, de Grazia J, Núñez R, Alarcón P, Villegas R, et al. Rheumatoid meningitis: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Neurol*. 2021;28(9):3201-3210.
- Abussuud ZA, Geneta VP. Rheumatoid Meningitis. *World Neurosurg*. 2020;137:98-101.
- Qin Z, Kim J, Valencia D, Hamoodi L, Neltner J, Sizemore T, et al. Rheumatoid meningitis: A case report and review of the literature. *Neurol Clin Pract*. 2020;10(1):73-83.
- Rodríguez Álvarez M, Rodríguez Valencia LM, Seidman R, Acharya A, Espina N, Ravindran N, et al. Rheumatoid meningitis and infection in absence of rheumatoid arthritis history: review of 31 cases. *Clin Rheumatol*. 2020;39(12):3833-3845.
- Roche Diagnostics. Elecsys Anti-CCP [Internet]. 2008-03, V 1 Español. Disponible en: <https://pim-eservices.roche.com/eLD/web/es/es/home>
- Roche Diagnostics. Elecsys RF-II [Internet]. 2011-09, V 4 Español. Disponible en: <https://pim-eservices.roche.com/eLD/web/es/es/home>

BLOQUE II

GENÉTICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR

2-NEONATO CON HIPOGLUCEMIA HIPERINSULINÉMICA REFRACTARIA AL TRATAMIENTO

Autores: Yolanda Posada Franco¹, Carmen Palma Milla², Ana Arteché-López².

¹Servicio de Análisis Clínicos, Instituto de Medicina de Laboratorio, Hospital Clínico San Carlos, Madrid.

²Servicio de Genética, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Palabras clave: Hipoglucemia, Hiperinsulinismo congénito, *ABCC8*

1. INTRODUCCIÓN

El hiperinsulinismo congénito (HIC) es la causa más común de hipoglucemia persistente en la infancia, con una incidencia estimada de 1/27.000 a 1/50.000 nacidos vivos.^{1,2} Se trata de una enfermedad clínica y genéticamente heterogénea caracterizada por hipoglucemia grave durante el periodo neonatal o la infancia, junto a la presencia de convulsiones y/o coma y elevado peso al nacimiento debido a una secreción aumentada de insulina por las células β -pancreáticas. La gravedad de la enfermedad varía desde una forma leve, que responde al tratamiento, hasta una forma grave resistente a fármacos, que puede necesitar la resección del páncreas. Si no se trata de inmediato, la grave hipoglucemia puede causar daño cerebral irreversible.^{1,3}

El HIC se debe a la presencia de alteraciones en genes relacionados con la secreción de insulina (*ABCC8*, *KCNJ11*, *GCK*, *GLUD1*, *HADH*, *SLC16A1*, *HNF4A*, *HNF1A*, *UCP2*, *HK1* y *PGM1*), siendo los genes contiguos *ABCC8* (*600509) y *KCNJ11* (*600937) del cromosoma 11, los que explican la mayoría de casos (36-70%).¹ Estos dos genes codifican respectivamente las subunidades SUR1 (receptor de sulfonilurea 1) y Kir6.2 (canal de K⁺ rectificador interno) de los canales de potasio dependientes de ATP de la membrana plasmática de las células β -pancreáticas, por lo que la inactivación de dichas subunidades da lugar a la secreción desregulada de insulina de estas células.^{2,4,5}

2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

2.1 Motivo de consulta:

Neonato que presenta al nacimiento temblor importante de miembros y labios. Se sospecha de crisis epilépticas con movimientos automáticos por lo que se determina la glucemia capilar objetivándose un valor de glucosa de 21 mg/dL. A pesar de administrar 10 cc de fórmula adaptada, persiste glucosa <20 mg/dL. Ante esta situación de grave hipoglucemia sintomática ingresa en la Unidad de Neonatología.

2.2 Antecedentes personales:

Es el primer hijo de padres no consanguíneos, ambos procedentes de Aranjuez. Embarazo controlado, sin diabetes gestacional. Parto eutócico. Recién nacido pretérmino (35+6), de peso (3.470 gr (p>99)) y talla (51 cm (p97))

elevados para la edad gestacional, con perímetro cefálico normal. Apgar 8/8. Exploración física normal.

2.3 Antecedentes familiares:

Padre sano. Madre con hipotiroidismo autoinmune. Sin otros antecedentes familiares de interés.

2.4 Enfermedad actual:

Al ingreso, a pesar de los aumentos progresivos de sueroterapia con aportes máximos de glucosa de 15.5 mg/Kg/min, persisten episodios de hipoglucemia recurrentes (niveles entre 20 y 70 mg/dL). Se completa el estudio bioquímico de hipoglucemia.

A los 3 días de vida se inicia tratamiento con diazóxido persistiendo episodios de hipoglucemia (en rango de 33-52 mg/dL).

A los 12 días de vida, presenta un episodio de hipoglucemia más grave, de 16 mg/dL, que precisa administración de dos bolos de suero glucosado, una dosis de glucagón intravenoso y aportes de glucosa intravenosa de hasta 20 mg/Kg/min para conseguir glucemias normales, que vuelven a descender en las horas siguientes.

Ante la falta de respuesta al tratamiento, se suspende el diazóxido y se inicia tratamiento con octreótido, sin conseguir disminuir los aportes de glucosa.

2.5 Exploración física:

Al nacimiento presenta aspecto macrosómico con fenotipo facial normal, sin macroglosia, cráneo normal. Hipotónico, reactivo y despierto. Abdomen normal, auscultación cardiopulmonar normal. No criptorquidia. Exploración neurológica normal.

3. INFORME DEL LABORATORIO

En la analítica realizada el primer día de vida se objetiva hipoglucemia persistente con niveles anormalmente elevados de insulina y péptido C. Ver tabla 1. El resto de determinaciones resultaron normales, incluyendo el estudio metabólico en plasma y orina (aminoácidos, ácidos orgánicos y acilcarnitinas) (Tabla 1).

PARÁMETROS (Valores de referencia)	Al ingreso
Glucosa capilar mg/dL (40-80)	28
Glucosa mg/dL (40-80)	60
Insulina μ U/mL (2-29)	59.2
Péptido C ng/mL (0.9-7.1)	7.37
Cortisol basal μ g/dL (6-18)	32.50
Hormona del crecimiento ng/mL (0-3)	17

Tabla 1. Parámetros bioquímicos más significativos del paciente al ingreso.
Elaboración propia.

4. DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES

La etiología de la hipoglucemia es diversa, siendo las principales causas las siguientes:

- Fármacos.
- Enfermedades graves o estrés perinatal (sepsis, asfixia).
- Prematuridad, retraso del crecimiento intrauterino.
- Déficits hormonales (cortisol, hormona del crecimiento...).
- Tumores no de células β .
- Hiperinsulinismo endógeno.
 - Insulinoma (adultos).
 - HIC por trastornos de las células β -pancreáticas.
 - Hipoglucemia autoinmune.
- Errores congénitos del metabolismo.
- Hipoglucemia facticia.

Una hipoglucemia neonatal transitoria que se resuelve a las 48 horas tras el nacimiento, es una manifestación común en el recién nacido sano. Sin embargo, cuando ésta es grave y prolongada, puede ser patológica y generalmente está asociada a factores de riesgo específicos y a una hipoglucemia congénita.⁶

5. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

Ante la presencia de hipoglucemia persistente con niveles elevados de insulina y péptido C, la primera sospecha clínica es un hiperinsulinismo endógeno congénito, por lo que se solicita estudio genético por parte del servicio de Endocrinología pediátrica.

Se realiza estudio genético mediante secuenciación masiva del exoma completo filtrando el análisis a 10 genes relacionados con el diagnóstico diferencial de HIC, obteniéndose las siguientes coberturas a una profundidad de lectura >20X: *ABCC8* (100%), *GCK* (100%), *GLUD1* (100%),

HADH (99.6%), *HNF1A* (100%), *HNF4A* (97.2%), *INSR* (100%), *KCNJ11* (100%), *SLC16A1* (100%), *UCP2* (100%).

El análisis revela la presencia en aparente homocigosis de la variante c.3574del (p.(Asp1192MetfsTer16)), clasificada como patogénica siguiendo las recomendaciones del American College of Medical Genetics and Genomics⁷ situada en el dominio transmembrana ABC tipo 1-2 del gen *ABCC8* (NM_000352.4), compatible con el diagnóstico de Hiperinsulinismo congénito autosómico recesivo (MIM #256450), una forma de hiperinsulinismo caracterizado por la presentación neonatal de hipoglucemia grave refractaria al tratamiento.

El estudio de segregación realizado mediante secuenciación Sanger en los progenitores, confirmó la presencia de la variante c.3574del en homocigosis en el gen *ABCC8*, al ser ambos progenitores portadores sanos de la variante.

Se realizan las siguientes pruebas complementarias:

- Ecografía abdominal: sin hallazgos significativos.
- PET-TAC con 18F-DOPA: afectación difusa del páncreas.

Con todo esto, se decide realizar una pancreatomecía subtotal desde la cola a la cabeza del páncreas mediante laparoscopia. El páncreas presentaba una superficie uniforme, sin nódulos. El estudio anatomopatológico de la pieza quirúrgica mostró cambios compatibles con HIC de patrón difuso.

6. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Con los resultados bioquímicos, el estudio genético y los resultados histológicos, el diagnóstico definitivo es Hipoglucemia precoz grave y sintomática por HIC difuso, causado por la presencia en homocigosis de una variante patogénica en el gen *ABCC8*.

Presenta además riesgo neurológico debido a los episodios de hipoglucemia, aunque la exploración neurológica por el momento es normal.

7. EVOLUCIÓN

Al segundo día tras la pancreatectomía presentó hiperglucemia, precisando insulina durante 5 días, que posteriormente se suspendió. Permaneció ingresado un mes y medio con niveles de glucosa entre 50 y 200 mg/dL. Alta con nutrición por vía enteral con sonda nasogástrica y control de glucemia por sensor intersticial de monitorización continua. Se mantiene seguimiento por el servicio de Pediatría.

8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

2.1 Mecanismo molecular:

Los canales K^+ ATP presentes en los islotes de Langerhans de las células β -pancreáticas tienen un papel central en la regulación de la secreción de insulina. Responden a los cambios fluctuantes de la concentración de glucosa en sangre, acoplado el metabolismo de ésta con la actividad eléctrica de la membrana celular. Cuando aumentan los niveles de glucosa, aumenta el metabolismo y la unión de ATP induce el cierre del canal K^+ ATP, permitiendo la despolarización de la membrana y la posterior activación de los canales de calcio dependientes de voltaje, que permite la entrada de calcio al interior de la célula y desencadena la exocitosis de los gránulos de insulina. Por el contrario, en condiciones de hipoglucemia y un metabolismo reducido, los canales K^+ ATP están abiertos y el flujo de K^+ produce la hiperpolarización de la membrana, haciendo que los canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje permanezcan cerrados y, por tanto, sin secreción de insulina.^{1,8} (Figura 1).

Los canales K^+ ATP son complejos octaméricos formados por 4 subunidades Kir6.2 que llevan el sitio de unión inhibitorio y se disponen formando el poro del canal. Cada una de estas

subunidades está asociada a una de las 4 subunidades reguladoras SUR1, que otorgan al canal la sensibilidad a los nucleótidos MgATP/MgADP y a los fármacos. Los canales K^+ ATP se abren y se cierran en función del balance entre ADP y ATP: la unión del ATP a Kir6.2 cierra el canal, mientras que la unión de MgADP a los dominios de unión a nucleótidos (NBD1 y NBD2) de la subunidad SUR1 produce la apertura del canal. Adicionalmente, los canales K^+ ATP pueden regularse farmacológicamente a través de las sulfonilureas que se unen a los dominios intracelulares de SUR1 y actúan cerrando el canal independientemente del ATP y favoreciendo la secreción de insulina. Por ello son muy utilizados en el tratamiento de la diabetes mellitus de tipo 2. Por el contrario, los agonistas del canal K^+ ATP, como el diazóxido, interaccionan con SUR1, abren el canal e inhiben la secreción de insulina, independientemente de los niveles de glucosa en sangre. Estos se utilizan clásicamente en el tratamiento de la hipoglucemia hiperinsulinémica.⁸ (Figura 2).

2.2 Variantes genéticas:

Dado el complejo mecanismo celular que regula la secreción de insulina, es esperable que cualquier alteración en *ABCC8* o *KCNJ11* produzca una hipoglucemia o una hiperglucemia, en función de si se produce un efecto inhibitorio o activador, respectivamente. Así, las variantes de pérdida de función en los canales de K^+ ATP se asocian mayoritariamente a HIC, mientras que las variantes activadoras se asocian al fenotipo opuesto: la diabetes.^{1,8} (Figura 3).

Se ha descrito que las variantes de pérdida de función en el gen *ABCC8* impiden la expresión del canal en la superficie de la membrana o se asocian con canales en superficie que no responden completamente a la activación de MgADP, lo que tiene implicaciones terapéuticas.⁴ La mayoría de estas alteraciones siguen un patrón de herencia autosómica

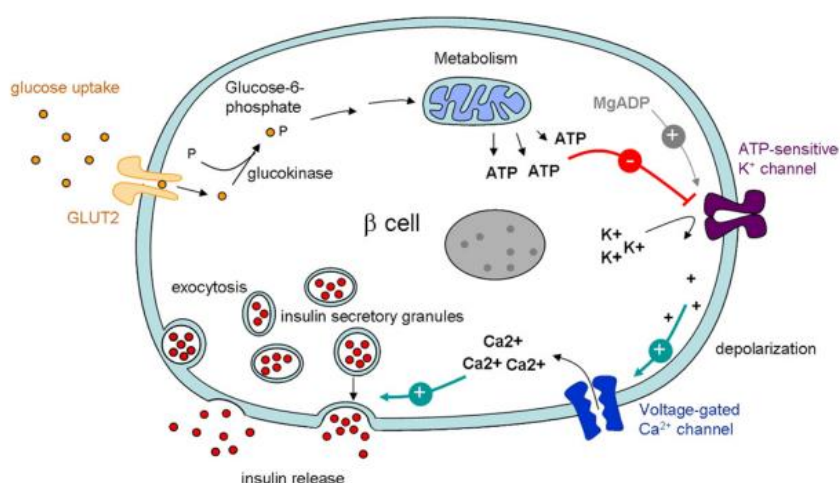


Figura 1. Metabolismo de la célula β -pancreática en respuesta a la captación de glucosa. La glucosa entra en la célula a través del transportador GLUT2, se fosforila y se metaboliza en las mitocondrias. El ATP producido compite con el MgADP y cierra el canal K^+ ATP. La despolarización subsiguiente abre los canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje y la entrada de Ca^{2+} desencadena a su vez la exocitosis de los gránulos secretores de insulina. La flecha con un símbolo menos (-) representa una inactivación del canal K^+ ATP. La flecha con un símbolo más (+) indica una activación, ya sea la apertura de los canales o la exocitosis de los gránulos. Adaptado de: Saint-Martin *et al*, 2011.

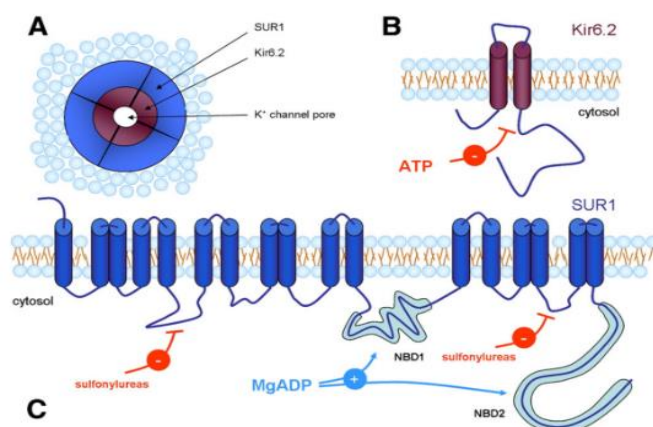


Figura 2. Estructura esquemática del canal K⁺ATP. (A) Sección transversal del canal K⁺ATP octamérico. El poro del canal está formado por 4 subunidades Kir6.2 cada una de las cuales está asociada a una subunidad reguladora SUR1. (B) Topología transmembrana de una subunidad Kir6.2. La unión del ATP a Kir6.2 cierra el canal. (C) Topología transmembrana de una subunidad SUR1. La unión del MgATP a NBD1 y NBD2 permite la apertura del canal. Adaptado de: Saint-Martin *et al*, 2011.

recesiva, salvo un número reducido de variantes *missense* con herencia autosómica dominante que producen canales en membrana con una activación alterada de MgADP. También en el gen *KCNJ11* se han descrito variantes con patrón de herencia tanto dominante como recesiva.¹

2.3 Histología:

Histológicamente, el HIC se caracteriza por hiperplasia de los islotes de Langerhans y puede presentarse como una forma difusa o focal, lo que tiene implicaciones en el manejo clínico y terapéutico del paciente. Ambos subtipos son igualmente prevalentes y clínicamente indistinguibles, la mejor forma para diferenciarlos es mediante una tomografía por emisión de positrones (PET) con 18F-fluoro-L-DOPA. También, la identificación del tipo de alteración genética es importante para una correcta clasificación.²

El patrón difuso afecta a todas las células β del páncreas y se asocia mayoritariamente a variantes patogénicas bialélicas en el gen *ABCC8* o *KCNJ11*, si bien también se han descrito algunas variantes en heterocigosis.¹ Por el contrario, el patrón focal es esporádico y suele ser el resultado de dos eventos independientes: una alteración genética paterna en heterocigosis en *ABCC8* o *KCNJ11* junto a una pérdida somática de la región improntada 11p15 materna (pérdida de heterocigosis) en mosaico.³ Histológicamente, las lesiones focales consisten en pequeñas regiones de adenomatosis de los islotes que se desarrollan como resultado de la expresión desequilibrada de los genes supresores de tumores *H19* y *CDKN1C* en la región 11p15 con impronta materna, y la expresión aumentada del gen *IGF2* paterno que codifica el factor de crecimiento similar a la insulina 2, que conduce a hiperplasia. Por tanto, la hiperplasia de células β se debe a la pérdida somática de la región materna 11p15.1-15.5 y, consecuentemente, la hemicigosis de la correspondiente región paterna alterada.

Además, existen otras formas de HIC no bien caracterizadas. Se trata de formas atípicas en mosaico en las que rara vez se identifican variantes en los canales K⁺ATP. Se ha

postulado la disomía uniparental paterna en mosaico como posible mecanismo molecular.⁸

2.4 Tratamiento:

El tratamiento principal para los pacientes con HIC es el diazóxido. Sin embargo, los pacientes con alteraciones genéticas en *ABCC8* o *KCNJ11* que impiden el tráfico correcto de las proteínas a la membrana, suelen ser no respondedores^{1,2}, como ocurre en el caso aquí descrito.

A pesar de que se ha descrito algún caso respondedor⁹, la mayoría de los pacientes con formas focales y difusas con alteraciones bialélicas en *ABCC8* o *KCNJ11*, no responden al tratamiento con diazóxido, a diferencia de las formas de HIC difusas con alteraciones monoalélicas, las cuales pueden ser tanto respondedoras como no respondedoras.^{2,3,10}

En pacientes no respondedores, las opciones terapéuticas alternativas incluyen análogos de somatostatina, glucagón, octreótido y bloqueantes de canales de calcio como nifedipina. El tratamiento dietético puede ser útil y consiste en una alimentación oral enriquecida con glucosa y una alimentación enteral continua o frecuente.²

En las formas focales, el tratamiento de elección es la pancreatometomía parcial, que suele ser curativa, evitando el desarrollo posterior de diabetes o la necesidad de tomar suplementos de enzimas pancreáticas.⁵ En las formas difusas refractarias al tratamiento, la pancreatometomía casi total puede ser una alternativa, aunque el resultado es variable, pudiendo persistir la hipoglucemia o aumentando el riesgo de complicaciones como diabetes e insuficiencia pancreática exocrina.²

2.5 Importancia del estudio genético:

La identificación de variantes patogénicas bialélicas en formas graves y difusas de HIC que no responden al diazóxido, proporciona un diagnóstico genético clínicamente útil, permite el diagnóstico prenatal y la realización de un adecuado asesoramiento genético.

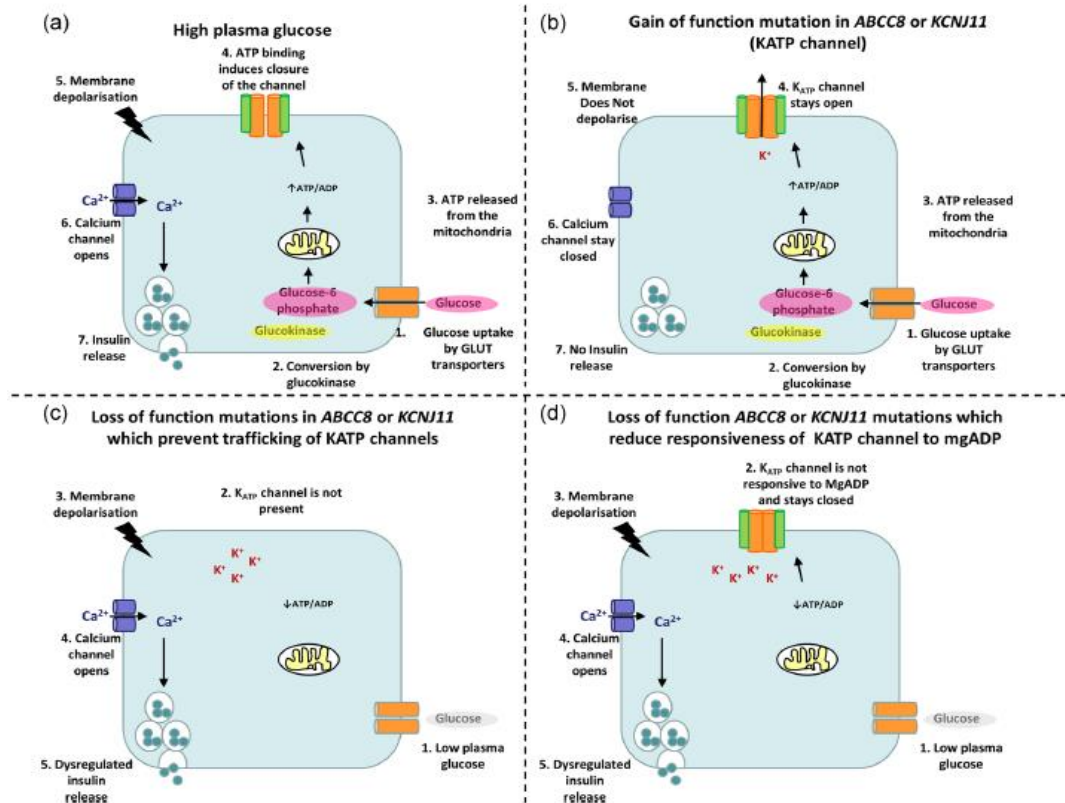


Figura 3. Representación esquemática de la secreción de insulina en la célula β-pancreática. (a) En una célula normal en un entorno con alta concentración de glucosa plasmática, ésta se metaboliza tras la entrada en la célula β a través de un transportador GLUT. Esto provoca un cambio en la relación ATP:ADP, lo que lleva al cierre del canal, a la despolarización de la membrana y a la activación de los canales de calcio dependientes de voltaje. El calcio entra en la célula, lo que desencadena la liberación de insulina. (b) En una célula con una alteración activadora del canal K⁺ATP hace que la membrana se mantenga en un estado de hiperpolarización. Los canales de calcio permanecen cerrados y no se secreta insulina, produciendo diabetes. (c) En una célula con una alteración inhibitoria que provoca la ausencia o reducción de la proteína en la superficie de la membrana, ésta permanece en un estado despolarizado, independientemente del estado metabólico, lo que conduce a una secreción disregulada de insulina. d) En una célula con una alteración inhibitoria que permite la formación de canales que se dirigen a la membrana, pero tienen una activación de MgADP deteriorada, se produce también una secreción disregulada de insulina. Adaptado de: De Franco, Elisa *et al*, 2020.

Por el contrario, en pacientes con una única alteración en heterocigosis, el análisis genético debe evaluarse junto con el estudio de segregación en los progenitores y el diagnóstico por imagen PET con el fin de clasificar correctamente a los pacientes como formas focales o difusas y realizar un adecuado manejo terapéutico.^{7,9} Si la variante es *de novo* o heredada por vía paterna y el diagnóstico por PET apoya una forma focal, se ofrecerá la cirugía para la resección de la lesión. Sin embargo, si el diagnóstico por PET apoya una forma difusa y se ha identificado una única alteración del canal K⁺ATP en heterocigosis, el análisis genético tiene un valor añadido limitado.⁸

Dada la naturaleza altamente polimórfica de *ABCC8* y *KCNJ11*, la existencia de alteraciones tanto activadoras como inhibitorias, los múltiples patrones de herencia y la penetrancia variable de la enfermedad, la interpretación de las variantes identificadas en estos genes puede ser extremadamente difícil.¹

9. CONCLUSIONES

Es fundamental clasificar correctamente a los pacientes en las dos principales formas histopatológicas (focal vs difusa) dado que el manejo clínico y la decisión quirúrgica sobre la extensión de la pancreatectomía son diferentes. La clasificación histológica se correlaciona bien con el análisis genético, sin embargo, resulta un desafío diagnóstico en algunos pacientes.¹⁰ Por ello, son necesarios estudios adicionales que profundicen y nos permitan conocer las bases genéticas en esta patología.⁵

Un diagnóstico temprano y una estrategia terapéutica adecuada son determinantes para un buen resultado clínico, ya que episodios prolongados y graves de hipoglucemia pueden provocar daño neurológico irreversible. Este riesgo puede ser mayor en casos de HIC de inicio neonatal que no responden al diazóxido², como es el caso aquí descrito. La corrección temprana de la hipoglucemia en el paciente, favoreció sin duda su buen estado neurológico.

BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. De Franco E, Saint-Martin C, Brusgaard K, et al. Update of variants identified in the pancreatic β -cell KATP channel genes KCNJ11 and ABCC8 in individuals with congenital hyperinsulinism and diabetes. *Hum Mutat.* 2020;41(5):884-905.
2. Sousa-Santos F, Simões H, Castro-Feijóo L, et al. Congenital hyperinsulinism in two siblings with ABCC8 mutation: same genotype, different phenotypes. *Arch Endocrinol Metab.* 2018;62(5):560-565.
3. Martínez R, Fernández-Ramos C, Vela A, et al. Clinical and genetic characterization of congenital hyperinsulinism in Spain. *Eur J Endocrinol.* 2016;174(6):717-726.
4. Yan FF, Lin YW, MacMullen C, et al. Congenital hyperinsulinism associated ABCC8 mutations that cause defective trafficking of ATP-sensitive K⁺ channels: identification and rescue. *Diabetes.* 2007;56(9):2339-2348.
5. Suchi M, MacMullen C, Thornton PS, et al. Histopathology of congenital hyperinsulinism: retrospective study with genotype correlations. *Pediatr Dev Pathol.* 2003;6(4):322-333.
6. Thompson-Branch A, Havranek T. Neonatal Hypoglycemia. *Pediatr Rev.* 2017;38(4):147-157.
7. LSue Richards, PhD1, Nazneen Aziz, PhD2, 16, Sherri Bale, PhD3, David Bick, M. et al. Standards and Guidelines for the Interpretation of Sequence Variants: A Joint Consensus Recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology Sue. *Genet. Med.* 17, 405–424 (2015).
8. Saint-Martin C, Arnoux JB, de Lonlay P, et al. *KATP channel mutations in congenital hyperinsulinism.* *Semin Pediatr Surg.* 2011;20(1):18-22.
9. Taylor-Miller T, Houghton J, Munyard P, et al. *Congenital hyperinsulinism due to compound heterozygous mutations in ABCC8 responsive to diazoxide therapy.* *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2020;33(5):671-674.
10. Bellanné-Chantelot C, Saint-Martin C, Ribeiro MJ, et al. *ABCC8 and KCNJ11 molecular spectrum of 109 patients with diazoxide-unresponsive congenital hyperinsulinism.* *J Med Genet.* 2010;47(11):752-759.

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Cryer PE, Davis SN. Hipoglucemia. En: Jameson J, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Loscalzo J. editores. Harrison. Principios de Medicina Interna, 20^a ed. McGraw Hill; 2018. Accessed diciembre 22, 2021. <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2461§ionid=213019081>.

3-HIPERAMONEMIA NEONATAL

Autores: Ylenia Pérez Arnaiz¹, Irene Gómez Manjón²

¹Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

²Servicio de Genética, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Palabras clave: Ciclo de la urea, Aminoácidos

1. INTRODUCCIÓN

Los aminoácidos son las moléculas orgánicas que constituyen las proteínas. Además, desempeñan otras funciones esenciales para el correcto funcionamiento del organismo ya que, algunos de ellos, actúan como neurotransmisores o precursores de estos, precursores de otras moléculas orgánicas, como la melanina, y como intermediarios de la síntesis de purinas o pirimidinas.

El catabolismo de los aminoácidos tiene como finalidad la obtención de energía metabólica mediante conversión de éstos en cetoácidos y glutamato gracias a enzimas denominadas aminotransferasas. Una particularidad del metabolismo aminoacídico es la necesidad de separar el grupo amino del esqueleto carbonado del aminoácido. El grupo amino se transfiere a una molécula de alfa-cetoglutarato dando lugar a una molécula de glutamato que podrá reciclarse para sintetizar de nuevo productos nitrogenados, o bien sufrirá una desaminación oxidativa para transformarse en amonio y, posteriormente, excretarse en forma de urea. (Figura 1)

Los errores congénitos del metabolismo aminoacídico abarcan cuatro grupos sindrómicos que difieren en su

fisiopatología, manifestaciones clínicas y tratamiento. Estos son: aminoacidopatías, defectos del ciclo de la urea, acidurias orgánicas y trastornos del transporte de aminoácidos.

Entre las manifestaciones clínicas comunes en alteraciones del metabolismo de los aminoácidos se encuentra la aparición de hiperamonemia que provocará un espectro de síntomas de gravedad variable, entre los que hay que destacar la sintomatología neurológica. Esta afectación del sistema nervioso se debe a la capacidad del amonio de difundir a través de la barrera hematoencefálica. Una vez en el sistema nervioso, el amonio es incorporado al ácido glutámico dando lugar a glutamina, un aminoácido con importante actividad osmolar y que, en elevadas concentraciones, favorece la aparición de edema cerebral. Además, el amonio actúa como inhibidor de la sinapsis

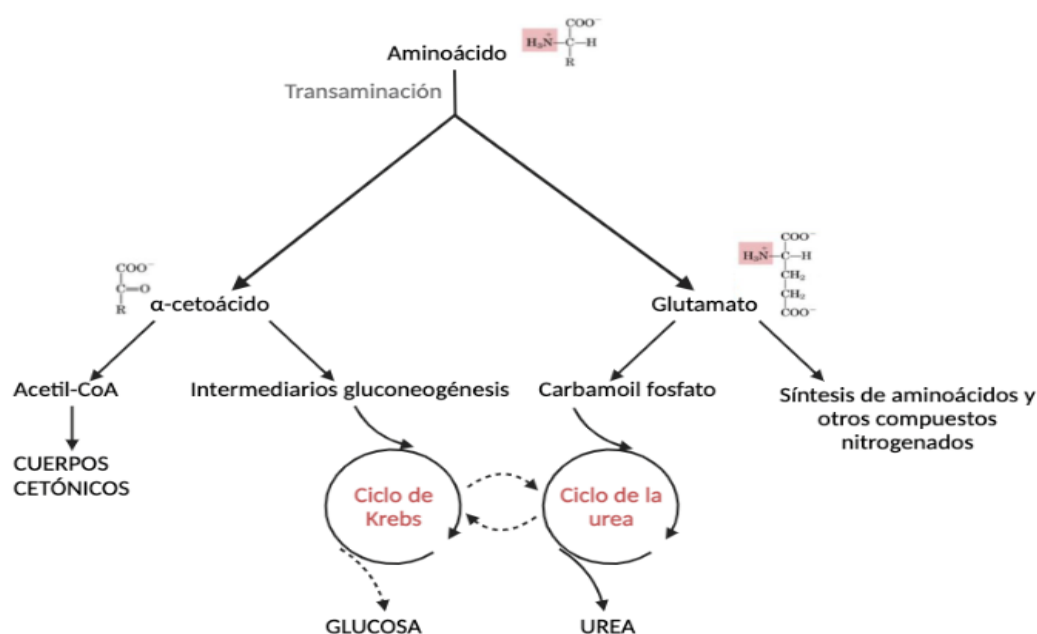


Figura 1. Catabolismo de aminoácidos. Adaptado de: Nelson DL, Cox MM. 2009.

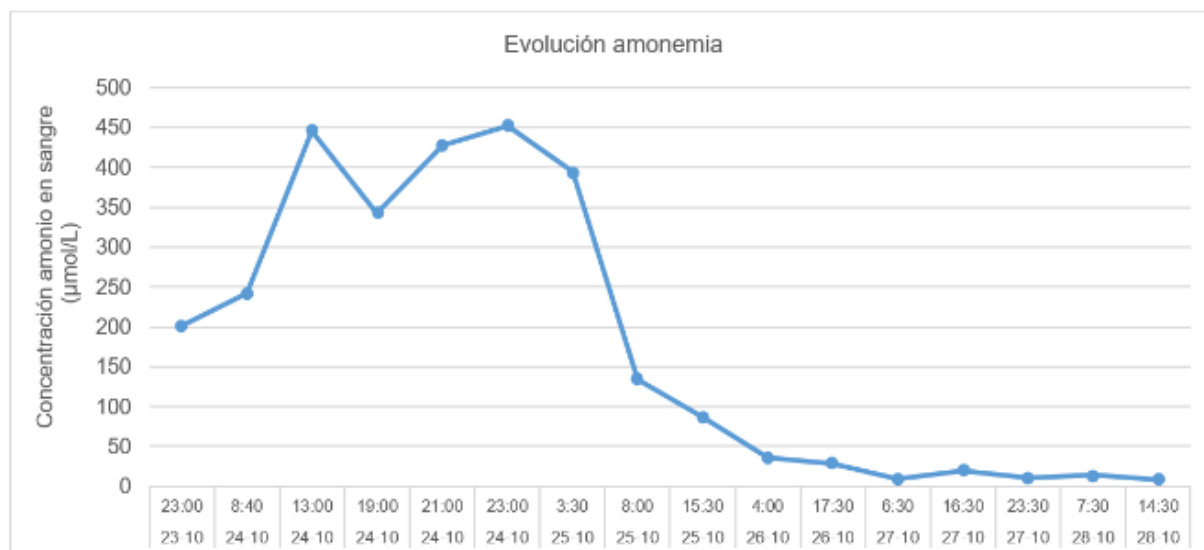


Figura 2. Controles seriados de amonemia durante el ingreso. Elaboración propia.

neuronal y estimulador del transporte del triptófano al cerebro, que, posteriormente será convertido a serotonina, interviniendo en la neurotransmisión serotoninérgica.

Las alteraciones metabólicas que cursan con hiperamonemia comparten una serie de características clínicas. Es común la existencia de un período asintomático tras el nacimiento y el inicio de síntomas se desencadena debido a factores precipitantes como la ingesta de alimentos, apareciendo de forma brusca e intermitente. La presentación neonatal se caracteriza por vómitos, convulsiones, letargia y coma mientras que la aparición tardía cursa con una sintomatología más leve.

La hiperamonemia sintomática neonatal es una urgencia médica que ha de identificarse precozmente, diagnosticarse específicamente y tratarse eficazmente para así mejorar el pronóstico inmediato y a largo plazo del paciente.

2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

2.1 Motivo de consulta:

Neonato de dos días de edad que ingresa por clínica de encefalopatía e hiperamonemia a estudio.

2.2 Antecedentes personales:

Requerimiento de reanimación tipo I por aspiración de secreciones durante el parto.

2.3 Antecedentes familiares:

Fiebre materna intraparto.

Sin más antecedentes familiares de interés.

2.4 Enfermedad actual:

A las horas de vida, debuta con mala tolerancia digestiva con regurgitación de las tomas. Por persistencia de los vómitos, se decide ingreso en la Unidad Neonatal comenzando dieta absoluta con sueroterapia intravenosa, presentando en este

contexto empeoramiento neurológico progresivo con hiporreactividad generalizada y escasa reactividad a estímulos, así como movimientos armónicos disminuidos y marcada hipotonía axial con reflejos normales.

En las primeras horas de ingreso presentó dos episodios compatibles con crisis convulsivas que cedieron tras tratamiento farmacológico sin volver a presentar crisis posteriormente.

2.5 Exploración física:

En cuanto a la exploración física al ingreso, presenta constantes generales normales y aceptable estado general. Sin embargo, destaca hiporreactividad sin apertura ocular espontánea, con escasa reactividad a estímulos dolorosos, hipotonía de eje con hipertonia de miembros superiores e inferiores sin hiperreflexia asociada.

3. INFORME DEL LABORATORIO

Debido a la mala tolerancia digestiva y al marcado deterioro neurológico, se solicitan niveles de amonio, confirmandose hiperamonemia de 201 μmol/L. Se realizan controles seriados de amonio persistiendo elevación con niveles máximos de 452 μmol/L el segundo día de ingreso. (Figura 2)

Ante la sospecha de enfermedad metabólica se extraen muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR), plasma y orina de 24 horas, previas al inicio de tratamiento con cofactores y quelantes, obteniendo los siguientes resultados:

- Sangre: aminoácidos en límites bajos destacando concentración de citrulina por debajo del intervalo de referencia y de glutamina normal.
- LCR: elevación de glutamina.
- Orina de 24 horas: elevación de ácido glutámico y de ornitina. Citrulina dentro del intervalo de referencia.

Se repiten las pruebas metabólicas de cribado neonatal en sangre de talón, presentando disminución de citrulina y aumento de glutamina.

4. DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES

Ante el empeoramiento clínico progresivo en las primeras horas de ingreso y el antecedente de fiebre materna intraparto, se solicita analítica de despistaje infeccioso con fórmula leucocitaria normal y PCR de SARS-CoV-2 negativa, y se inicia antibioterapia empírica con ampicilina y gentamicina a las dosis habituales, previa extracción de hemocultivo.

Debido a la alteración neurológica persistente, se realiza punción lumbar recogiendo muestra de líquido cefalorraquídeo para estudio celular, bioquímico y microbiológico. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 1.

Con dichos resultados en LCR, confirmación de esterilidad del hemocultivo, y ante la evolución clínica del paciente sin signos sugerentes de infección, se decide suspender antibioterapia al cuarto día de ingreso.

5. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

La alteración del perfil aminoacídico en las distintas muestras biológicas y la hiperamonemia severa sugieren de enfermedad metabólica relacionada con el ciclo de la urea. Las dos entidades más frecuentes son déficit de carbamoil-fosfato-sintetasa I (CPSI) y déficit de ornitina-transcarbamoilasa (OTC), siendo estas las dos principales sospechas diagnósticas, por lo que se solicita estudio molecular para esclarecer el origen genético de la patología y la etiología de esta.

Para ello, se realiza secuenciación masiva del exoma completo, filtrando el análisis para los 57 genes incluidos en el panel de hiperamonemia, identificándose, en heterocigosis, dos variantes probablemente patogénicas en el gen *CPS1*, que codifica para el enzima carbamoil-fosfato-sintetasa I.

Una delección de dos nucleótidos que genera un codón de parada prematuro en la posición 1256 de la proteína, dando lugar o bien a un ARNm que sería degradado por el mecanismo de degradación mediado por variantes sin sentido (NMD) o bien a una proteína no funcional truncada. A pesar de no haber sido descrita en bases de datos poblacionales, se ha reseñado la presencia de variantes de pérdida de función en este gen como un mecanismo de patogenicidad en pacientes afectados, incluso en posiciones posteriores a esta. Por ello, se clasifica esta variante como probablemente patogénica.

La segunda variante localizada consiste en la transición de una guanina por una adenosina que, presumiblemente, produce el cambio de la metionina del codón 815 por una isoleucina en la proteína codificada. Esta variante ha sido reportada en la literatura en un neonato con patología compatible con deficiencia de CPSI en heterocigosis compuesta con otra variante en el gen *CPS1*. Además, la mayoría de programas bioinformáticos de predicción *in silico* consultados sugieren un posible efecto deletéreo de la variante. Por todo ello, esta variante es clasificada como probablemente patogénica.

Debido a que el déficit de carbamoil-fosfato-sintetasa I presenta un patrón de herencia autosómico recesivo, es necesario realizar la segregación de las variantes en los progenitores para poder determinar si se presentan en heterocigosis compuesta y así poder confirmar el diagnóstico molecular. Los resultados obtenidos del estudio de segregación indican que cada una de las variantes ha sido heredada de un progenitor, siendo compatible con que las variantes analizadas se encuentren en heterocigosis compuesta en el caso índice.

Por otro lado, tras conocer el estado de portador de ambos progenitores para cada una de las variantes, se extiende el estudio al primogénito de la pareja para descartar un inicio tardío de la enfermedad. En este caso, únicamente se identifica la variante truncante, lo que le confiere el estatus de portador asintomático para el déficit de CPSI.

Pruebas realizadas	Resultados	IR
Cultivo LCR	Estéril	Estéril
Citología LCR		
- Hematíes	5 hematíes/ μ l	0-50 hematíes/ μ l
- Leucocitos	2 leucocitos/ μ l	0-27 leucocitos/ μ l
Bioquímica LCR		
- Glucosa	68 mg/dL	60-80 mg/dL
- Proteínas	47 mg/dL	10-30 mg/dL

Tabla 1. Estudio de LCR. IR: intervalo de referencia. Elaboración propia.

Es recomendable que, antes de tener descendencia, este individuo acuda a una consulta de asesoramiento genético ya que, al tratarse de una enfermedad con un patrón de herencia autosómico recesivo, el riesgo de transmitir la enfermedad a su descendencia dependerá del estatus de portador de variantes patogénicas en el gen *CPS1* de su pareja reproductiva, estando indicado realizar estudio molecular del gen a esta.

6. EVOLUCIÓN

Tras la confirmación de hiperamonemia por parte del laboratorio, a la espera de confirmación genética, se inicia nutrición parenteral sin aporte de proteínas y tratamiento con quelantes y cofactores (fenilacetato sódico, benzoato sódico, arginina, riboflavina, tiamina, piridoxina, ácido carginámico, hidroxibalamina y carnitina).

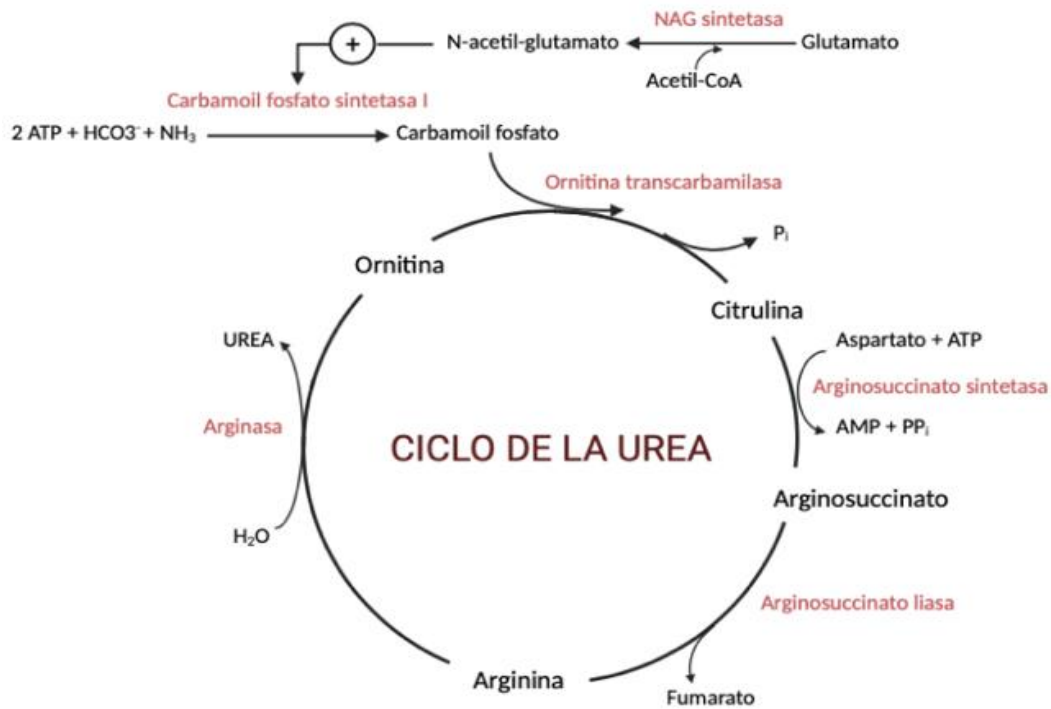


Figura 3. Ciclo de la urea. Adaptado de: Nelson DL, Cox MM. 2009.

Nombre de la enfermedad	Déficit enzimático
Deficiencia en CPS (Hiperamonemia tipo I)	Carbamoil fosfato sintetasa I
Deficiencia en OTC (Hiperamonemia tipo II)	Ornitina transcarbamilasa
Citrulinemia	Arginossuccinato sintetasa
Arginossuccinato aciduria	Arginossuccinato liasa
Argininemia	Arginasa
Deficiencia de N-acetilglutamato sintetasa	N-acetilglutamato sintetasa

Tabla 2. Enfermedades metabólicas relacionadas con el ciclo de la urea. Adaptado de: González Hernández A. 2014.

Debido a la persistencia de niveles elevados de amonio de hasta 452 $\mu\text{mol/L}$ y a la elevación de la CK (niveles máximos de 570 U/L), se decide comenzar con hemodiafiltración venosa continua que se mantiene durante 43 horas. Tras suspender la hemodiafiltración, el paciente mantiene amonios dentro de la normalidad habiendo reiniciado aportes progresivos de proteínas en la nutrición parenteral. Se mantiene tratamiento con quelantes de amonio (fenilacetato sódico y benzoato sódico), arginina y ácido carglúmico, retirándose tratamiento con el resto de cofactores. Es dado de alta a los 8 días de vida con buen estado general, pero ha de mantener el tratamiento expuesto anteriormente.

7. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

El grupo amino producido en la degradación de aminoácidos es tóxico para el organismo. Por ello, ha de ser transportado desde los diferentes tejidos hasta el hígado para ser transformado en urea a través del ciclo de la urea. En esta ruta metabólica participan un total de cinco enzimas catalizando reacciones irreversibles. (Figura 3)

Los trastornos del ciclo de la urea (TCU) pertenecen a un grupo de enfermedades conocidas como errores congénitos del metabolismo. Se tratan de enfermedades metabólicas hereditarias derivadas de un defecto en cualquiera de las enzimas que participan en el ciclo de la urea.

Se estima que la prevalencia de TCU es de 1 de cada 25.000 nacidos vivos, aunque se cree que esta está subestimada debido a que muchos pacientes fallecen antes del diagnóstico.

Se conocen seis enfermedades metabólicas relacionadas con la ureagénesis (Tabla 2). Los defectos genéticos en cualquiera de estas enzimas provocan que, ante una ingesta proteica superior a los requerimientos diarios mínimos, se forme amonio en exceso y se acumule uno o más intermediarios del ciclo de la urea, en función de la enzima deficitaria.

El cuadro clínico de los pacientes con TCU es consecuencia de la hiperamonemia y es muy similar independientemente del déficit enzimático.

Existen dos tipos de manifestaciones clínicas de los TCU: debut neonatal y tardío. La forma neonatal es más grave y suelen ser letales si no se realiza un diagnóstico temprano fundamental para instaurar un tratamiento adecuado lo antes posible. En los casos de aparición tardía, la hiperamonemia suele ser más suave. La edad de aparición está relacionada con la actividad enzimática residual de la enzima deficitaria y la gravedad de la enfermedad con la posición que ocupa la enzima en el ciclo de la urea, por ello, la hiperamonemia más severa tendrá lugar ante déficits de las primeras enzimas del ciclo (CPSI y OTC). Esto es así puesto que conforme va avanzando el ciclo, los compuestos intermediarios que se forman son menos tóxicos que el amonio.

En función del patrón de metabolitos intermediarios cuantificados en sangre y/u orina se podrá identificar la actividad enzimática ausente, aunque el diagnóstico definitivo se realizará mediante estudio genético y cuantificación de actividad enzimática en biopsia hepática.

Los metabolitos que se han de cuantificar y su patrón de expresión en función del déficit enzimático será el siguiente:

- Amonio: todas las deficiencias comparten hiperamonemia superior a 150 $\mu\text{mol/L}$.
- Glutamina: hiperglutaminemia en sangre y orina presente en todos los déficits enzimáticos.
- Citrulina: se encontrarán concentraciones elevadas en déficit de arginosuccinato sintetasa y de arginosuccinato liasa. Sin embargo, los déficits de CPSI y de OTC presentarán concentraciones disminuidas de citrulina.
- Arginina: concentración plasmática disminuida en todos los déficits excepto en el déficit de arginasa donde se encontrará aumentada.
- Ácido orótico: los déficits de OTC y de CPSI presentarán concentraciones variables de ácido orótico (la concentración será mayor en el caso de deficiencia de OTC). Esto se da por el desvío del carbamoil fosfato hacia la ruta anabólica de síntesis de pirimidinas.

Se ha de tener en cuenta que otros procesos, como ciertas patologías hepáticas (hepatitis vírica o cirrosis) y acidemias orgánicas, pueden provocar hiperamonemia.

El tratamiento de los TCU se basa en un control estricto de la dieta caracterizado por una limitación de la ingesta de proteínas, un aumento de la ingesta de calorías para evitar un catabolismo excesivo y una suplementación con aminoácidos esenciales, como arginina.

Además, suelen emplearse ácidos aromáticos como benzoato sódico y fenilacetato sódico. Actúan como quelantes de amonio al conjugarse con glicina y glutamina respectivamente, para dar lugar a ácido hipúrico y fenilglutamina que serán eliminados en orina.

El cribado neonatal permite el diagnóstico de algunos de los errores congénitos del metabolismo, como la fenilcetonuria, la tirosinemia tipo I o el déficit de arginosuccinato sintetasa. Sin embargo, debido a la baja especificidad y sensibilidad del método para la detección de citrulina, no es posible cribar los TCU hipocitrulinémicos, como el déficit de CPSI, de OTC y de NAGS. Por ello, ante una hiperamonemia sintomática neonatal que haga sospechar una de estas alteraciones genéticas es importante que se diagnostique a la mayor brevedad posible para poner el tratamiento adecuado en relación al déficit enzimático.

Por ello, la hiperamonemia sintomática neonatal es una urgencia médica que ha de identificarse precozmente, diagnosticarse específicamente y tratarse eficazmente para así mejorar el pronóstico inmediato y a largo plazo del paciente.

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Bóveda Fontán MD. Aminoacidopatías y defectos del ciclo de la urea. Curso online de cribado neonatal. 1ed.
- Carretero Colomer M. Trastornos del ciclo de la urea. Offarm. 2004;23(9):136-138.

- Couce ML et al. Guía clínica de diagnóstico y tratamiento urgente de hiperamonemia neonatal. An Pediatr. 2009;70(2):183-188.
- Nelson DL, Cox MM. Oxidación de aminoácidos y producción de urea. En: Lehninger. Principios de Bioquímica. 5ª ed. Barcelona: Omega; 2009. p. 673-706.
- González A. Principios de bioquímica clínica y patología molecular. 2ª ed. Barcelona: Elsevier; 2014.

4-SÍNDROME DE CAPOS: VARIANTE RECURRENTE EN *ATP1A3*

Autores: Emma Soengas Gonda¹, Sonia Mayo de Andrés², María Teresa Sánchez Calvín²

¹Instituto de Investigación Hospital 12 de Octubre (imas12), Madrid. Centro de Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Raras (CIBERER), Madrid

²Servicio de Genética, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Palabras clave: CAPOS, *ATP1A3*, Hipoacusia

1. INTRODUCCIÓN

El síndrome de CAPOS (MIM#601338) (*Cerebellar ataxia, Areflexia, Pes cavus, Optic atrophy and Sensorineural hearing loss*), fue descrito por Nicolaides *et al.* en 1996¹. Es un trastorno neurológico raro con herencia autosómica dominante. Clínicamente se caracteriza por la aparición en la primera infancia de episodios de encefalopatía atáxica aguda asociada a procesos febriles²⁻⁴. Estos episodios tienden a disminuir con el tiempo, pero las secuelas neurológicas son permanentes y progresivas. Las personas afectadas por este síndrome además suelen desarrollar una discapacidad visual por atrofia óptica e hipoacusia neurosensorial bilateral. El espectro fenotípico también puede incluir movimientos oculares anormales, pie cavo y disfagia. El síndrome de CAPOS está asociado a la presencia de una única variante patogénica en heterocigosis, c.2452G>A, p.Glu818Lys, localizada en el exón 18 del gen *ATP1A3* (MIM*182350)².

2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

2.1 Caso 1:

2.1.1 Motivo de consulta:

Mujer de 24 años remitida a la consulta de Genética para estudio y asesoramiento genético por presentar un cuadro clínico consistente en hipoacusia neurosensorial moderada bilateral de causa desconocida.

2.1.2 Antecedentes personales:

En seguimiento por el Servicio de Neurología por inestabilidad de la marcha desde la infancia tras crisis febril que causó hipoacusia grave bilateral y progresiva. Refiere cierta dificultad para alcanzar objetos con las dos manos y tropiezos frecuentes.

2.1.3 Antecedentes familiares:

Sin antecedentes familiares de interés.

2.1.4 Enfermedad actual:

Hipoacusia severa bilateral. Posee una inteligibilidad a 60 dB (intensidad normal de la voz) del 4% para el oído derecho y 8% para el oído izquierdo que disminuyen más aún con el ruido ambiental. La comprensión sin lectura labial está muy afectada y no mejora con audífonos. No presenta alteraciones del lenguaje. La inestabilidad de la marcha ha mejorado con el tiempo. Tras resultado del estudio genético la paciente es remitida a oftalmología donde se evidencia la presencia de atrofia óptica. Actualmente la visión no se ve muy afectada manteniendo una agudeza visual entre 0,7 y 0,8 en ambos ojos.

2.1.5 Exploración física:

Examen cognitivo normal. No disartria. No diplopía. 2-3 batidas de nistagmo horizonte-rotatorio a la mirada horizontal bilateral-extrema. No dismetría en maniobras dedo-nariz, dedo-dedo ni talón-rodilla. Leve inestabilidad troncular en sedestación con ojos cerrados. Bipedestación inestable, con Romberg negativo. Marcha levemente inestable sin aumento de base de sustentación ni lateralización. Marcha en tándem imposible sin apoyo. Resto de valoración sin alteraciones.

2.2 Caso 2:

2.1.1 Motivo de consulta:

Varón de 38 años remitido a la consulta de Genética para estudio y asesoramiento genético por presentar un cuadro clínico consistente en atrofia óptica e hipoacusia neurosensorial bilateral.

2.1.2 Antecedentes personales:

Sin antecedentes destacables hasta los 10 años que comienza con hipoacusia neurosensorial bilateral progresiva y atrofia óptica bilateral, aunque puede continuar haciendo vida normal. A los 15 años sufre un cuadro infeccioso con fiebre que empeora la afectación auditiva y visual y desencadena problemas de coordinación y de estabilidad de la marcha (síndrome cerebeloso). Además, presenta hipoarreflexia generalizada.

2.1.3 Antecedentes familiares:

Sin antecedentes familiares de interés.

2.1.4 Enfermedad actual:

Actualmente tiene una discapacidad del 89%. La inestabilidad de la marcha ha mejorado pero las alteraciones oculares y auditivas han ido empeorando progresivamente.

2.1.5 Exploración física:

Cognitivo normal, nistagmo pendular. No dismetría en maniobras dedo-nariz, dedo-dedo ni talón-rodilla. Intensa disminución de la agudeza visual. Ataxia troncal moderada.

3. INFORME DEL LABORATORIO

Se realiza estudio genético mediante secuenciación masiva del exoma completo (kit xGen Exome Panel v2.0), filtrando el análisis para los genes incluidos en el panel de Hipoacusia en el caso 1 y el panel de Hipoacusia y Atrofia óptica en el caso 2 (Tabla 1). En ambos casos se ha identificado en heterocigosis la variante patogénica c.2452G>A,

GENES ESTUDIADOS	
Panel de hipoacusia	ABHD12, ABHD5, ACTB, ACTG1, ADCY1, ADGRV1, AIFM1, AK2, ALMS1, ANKH, AP1S1, ARSB, ATOH1, ATP1A3, ATP2B2, ATP6V0A4, ATP6V1B1, ATP6V1B2, BCS1L, BDP1, BRAF, BSND, BTBD, CABP2, CACNA1D, CATSPER2, CCDC50, CD151, CD164, CDC14A, CDH23, CDKN1C, CEACAM16, CEP78, CHD7, CHST3, CHSY1, CIB2, CISD2, CLCNKA, CLCNKB, CLDN14, CLIC5, CLPP, CLRN1, COCH, COL11A1, COL11A2, COL2A1, COL4A3, COL4A4, COL4A5, COL4A6, COL9A1, COL9A2, COL9A3, COQ6, CPLANE1, CRYL1, CRYM, DCDC2, DIABLO, DIAPH1, DIAPH3, DLX5, DMXL2, DNMT1, DSPP, EDN3, EDNRA, EDNRB, ELMOD3, EPS8, EPS8L2, ERCC2, ERCC3, ESPN, ESRRB, EYA1, EYA4, FAM189A2, FGF3, FGFR2, FGFR3, FLNA, FOXC1, FOXI1, FRAS1, FREM2, GATA2, GATA3, GDF5, GFER, GIPC3, GJA1, GJB1, GJB2, GJB3, GJB6, GLB1, GP1BB, GPM2, GRHL2, GRIP1, GRXCR1, GRXCR2, GSC, GSDME, GSTP1, HARS, HARS2, HGF, HOMER2, HOXB1, HSD17B4, ILDR1, JAG1, KARS, KCNE1, KCNJ10, KCNQ1, KCNQ4, KITLG, LARS2, LHFPL5, LHX3, LOXHD1, LRTOMT, MANBA, MARS2, MARVELD2, MASP1, MCM2, MET, MITF, MSRB3, MTAP, MYH14, MYH9, MYO15A, MYO1A, MYO3A, MYO6, MYO7A, NARS2, NDP, NF2, NLRP3, NOG, OFD1, OPA1, OSBPL2, OTOA, OTOF, OTOG, OTOGL, P2RX2, PAX3, PCDH15, PDZD7, PEX1, PEX16, PEX6, PITX2, PJVK, PLOD3, PMP22, PNPT1, POLD1, POLR1C, POLR1D, POU3F4, POU4F3, PRPS1, PTH, PTPN11, PTPRQ, RAF1, RDX, RIPOR2, RMND1, ROR1, RPA1, RPS6KA3, RRM2B, S1PR2, SALL1, SALL4, SEMA3E, SERAC1, SERPINB6, SH3TC2, SIX1, SIX5, SLC17A8, SLC19A2, SLC22A4, SLC26A4, SLC26A5, SLC29A3, SLC33A1, SLC4A11, SLC52A2, SLC52A3, SLITRK6, SMAD4, SMPX, SNAI2, SOST, SOX10, SOX2, STRC, SUCLA2, SYNE4, TBC1D24, TBL1X, TBX1, TCOF1, TCTN3, TECTA, TFAP2A, THRB, TIMM8A, TJP2, TMC1, TMC2, TMEM132E, TMEM216, TMIE, TMPRSS3, TNC, TPRN, TRIOBP, TRMU, TSPEAR, TWNK, TYR, USH1C, USH1G, USH2A, WBP2, WFS1, WHRN
Paneles de atrofia óptica	ACO2, AFG3L2, ANTXR1, ATP1A3, AUH, BCS1L, C12ORF65, CISD2, COX10, COX15, DNM1L, EIF2B1, EIF2B2, EIF2B3, EIF2B4, EIF2B5, FDXR, FOXRED1, GLRX5, MFN2, MTPAP, NBAS, NDUFA10, NDUFA2, NDUFA9, NDUFS1, NDUFS3, NDUFS4, NDUFS8, NMNAT1, NR2F1, OPA1, OPA3, PAX6, PDSS1, PLA2G6, POLG, PRPS1, RTN4IP1, SDHA, SLC25A46, SLC52A2, SNX10, SPG7, SSBP1, SURF1, TIMM8A, TMEM126A, TSFM, TWNK, WFS1, YME1L1, ZNF592

Tabla 1. Lista de genes estudiados en los pacientes. Elaboración propia.

p.Glu818Lys, en el gen *ATP1A3* (NM_152296.4), única variante conocida hasta la actualidad asociada al síndrome de CAPOS, compatible con el fenotipo de los pacientes.

4. DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES

Los síntomas de ataxia, hipoacusia neurosensorial y atrofia óptica no son únicos para el síndrome de CAPOS sino que también están presentes en muchas otras patologías, entre ellas:

- Enfermedades mitocondriales
- Trastornos congénitos de la glicosilación
- Enfermedades peroxisomales
- Defectos en el transporte de las riboflavinas
- Deficiencia de biotinidasa
- Atrofias ópticas dominantes sindrómicas (*OPA1*)
- Encefalitis o cerebelitis postinfecciosa
- Trastornos metabólicos de los ácidos orgánicos
- Síndrome de Guillén- Barré

5. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

Los estudios de segregación, realizados mediante secuenciación Sanger en los progenitores, demuestran que se trata de una variante *de novo* en ambos pacientes.

6. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Gracias al hallazgo molecular, compatible con la clínica de ambos pacientes, han podido ser diagnosticados de síndrome de CAPOS.

7. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

7.1 El gen *ATP1A3*

El gen *ATP1A3* se localiza en el cromosoma 19, contiene 23 exones y codifica la subunidad $\alpha 3$ de la ATPasa Na^+/K^+ . Este gen se expresa principalmente en la cóclea, nervio óptico, corteza cerebelosa y en las fibras nerviosas que inervan los músculos, explicando en gran medida las características clínicas de la enfermedad³.

Las ATPasas de Na^+/K^+ son heteroligómeros formados por una subunidad α catalítica, como *ATP1A3*, y una subunidad β glicosilada. Catalizan el intercambio de 3Na^+ intracelulares por 2K^+ extracelulares a través de la membrana plasmática con ayuda del ATP.

Estas enzimas juegan un papel clave en muchas vías de transducción de señales. Además, se encargan de mantener el gradiente electroquímico a través de la membrana plasmática, involucradas en la regulación de la recaptación

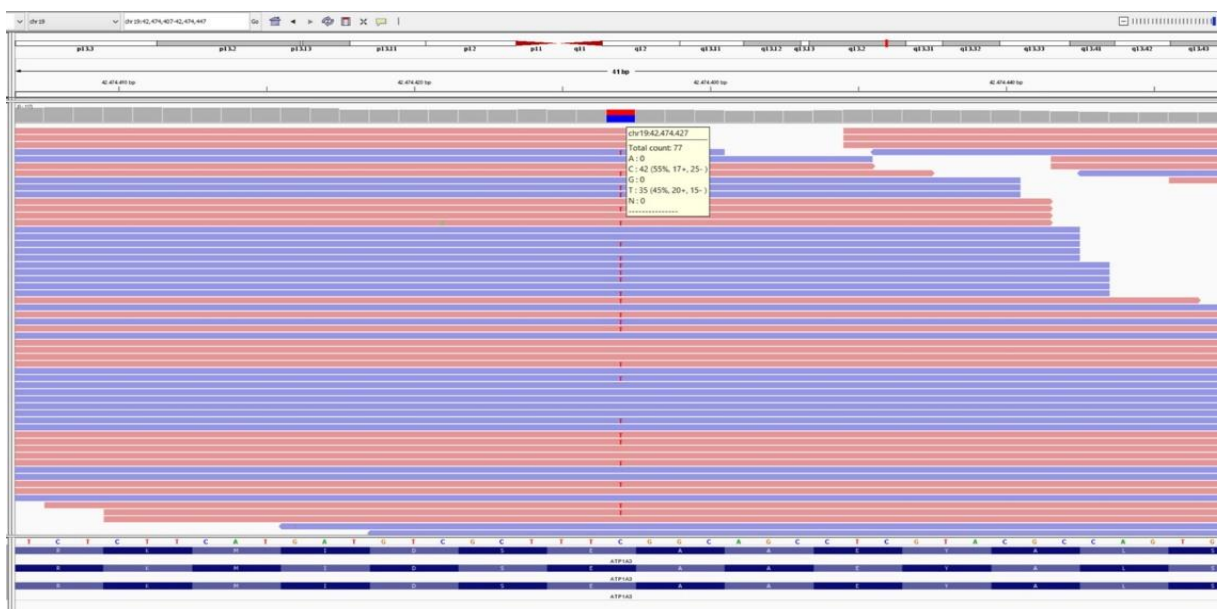


Figura 1. Visualización en IGV de la variante c.2452G>A en el gen *ATP1A3* detectada en el caso 1. Elaboración propia.

de neurotransmisores y de la excitabilidad eléctrica del nervio y el músculo.

En modelos animales con mutaciones en las ATPasas se observan fugas de electrolitos a través de la membrana plasmática y, además, estas fugas son mayores a elevadas temperaturas⁵. Esto puede explicar que los episodios agudos ocurran en procesos febriles. Recientemente se ha demostrado en ratones que la subunidad $\alpha 3$ de la ATPasa de Na^+/K^+ juega un papel clave en el anclaje de la retinosquina a los fotorreceptores y a las células bipolares de la retina lo que explica su acción en la visión. El rol de esta ATPasa en la audición es todavía desconocido, pero se expresa abundantemente en ganglios que están en contacto con las células ciliadas internas y externas de la cóclea².

La variante encontrada en el gen *ATP1A3* en nuestros pacientes, c.2452G>A, consiste en la transición de una guanina por una adenina (Figura 1). Se encuentra en una región *hotspot* mutacional donde hay múltiples variantes patogénicas descritas, asociadas a otros fenotipos que describiremos más adelante. Esta variante, presumiblemente da lugar al cambio de un aminoácido con carga negativa, el ácido glutámico, por un aminoácido con carga positiva, la lisina, en el codón 818 (p.Glu818Lys) de la proteína resultante (UniProtKB-P13637). Es un cambio no descrito en la base de datos poblacional *gnomAD*. Sin embargo, se encuentra clasificada como variante patogénica por múltiples suscriptores en la base de datos ClinVar (ID156238) y en la base de datos profesional de HGMD (CM140738). Todos los programas bioinformáticos de predicción *in silico* consultados sugieren un posible efecto deletéreo de la variante.

La presencia de variantes patogénicas en este gen (Figura 2) son responsables de tres enfermedades neurológicas con herencia autosómica dominante: el síndrome de CAPOS (MIM#601338), la Hemiplejía alternante de la infancia (AHC; (MIM#614820) y la Distrofia-Parkinsonismo de inicio precoz (DYT12; MIM#128235)^{4,6}. Muchos autores sugieren que estas tres entidades pertenecen a lo que se conoce como un

fenotipo continuo⁷, aunque solo el síndrome de CAPOS se manifiesta con hipoacusia neurosensorial y atrofia óptica. En la Tabla 2 se reflejan las características clínicas de las 3 entidades⁸.

7.2 El síndrome de CAPOS:

Los síntomas en el síndrome de CAPOS suelen comenzar en la infancia o inicio de la adolescencia, con una edad media de aparición de 2,5 años⁶. La mayoría de los pacientes debutan con episodios inducidos por fiebre y caracterizados por encefalopatía, ataxia cerebelar, hipotonía, paresia y movimientos oculares anormales. Las exploraciones posteriores al episodio agudo suelen mostrar hipoacusia neurosensorial bilateral (97%), arreflexia (97%), ataxia cerebelar (94%), atrofia óptica bilateral (91%), nistagmus (44%), pies cavos (34%) y disartria (37%). Otros rasgos que pueden aparecer con menor frecuencia son distonía, mioclonías, bloqueo cardíaco, bradicinesia y discapacidad intelectual. No se han descrito crisis epilépticas en estos pacientes. La mayoría de estos casos suelen presentar de 1 a 3 episodios agudos.

Una clave para el diagnóstico de este síndrome es la presencia de estudios electrofisiológicos normales en el contexto de la arreflexia que se explica por la disfunción de *ATP1A3* en los receptores de estiramiento muscular⁹.

No existe tratamiento específico para el síndrome de CAPOS, se utiliza la acetazolamida para prevenir o reducir el déficit neurológico en los episodios febriles agudos. Es un inhibidor de la anhidrasa carbónica cuyo mecanismo de acción consiste en crear un estado de acidosis cerebral y metabólico, reducir la fuga de iones y normalizar la excitabilidad neuronal.

	AHC	DYT12	CAPOS
Variante en <i>ATP1A3</i>	Varias	Varias	c.2452G>A p.E818K
Edad de inicio	0-18 meses	4-55 años	6 meses – 5 años
Evolución			
Oligofásica	-	+	+
Polifásica	+	-/+	-
Desencadenante			
Fiebre	+	+	+
Otro estrés fisiológico	+	+	-
Síntomas paroxísticos			
Distonía asimétrica	+	+	-
Paresia flácida asimétrica	+	-	-
Paresia flácida simétrica	+	-	+
Disartria	+	+	-/+
Disfagia	+	+	-/+
Movimientos oculares anormales	+	-/+	-/+
Epilepsia	-/+	-/+	-/+
Pérdida de consciencia	-/+	-	+
Síntomas no paroxísticos			
Ataxia	+	+	+
Distonía	+	+	-/+
Disartria	+	+	-/+
Bradiquinesia	-/+	+	-
Inestabilidad postural	-	+	+
Gradiente rostrocaudal	+	+	-
Asimetría del trastorno del movimiento	+	+	-
Retraso en el desarrollo/ Discapacidad intelectual	-/+	-	-/+
Atrofia óptica	-	-	+
Hipoacusia neurosensorial	-	-	+
Arreflexia	-/+	-/+	+
Pies cavos	-	-	-/+

Tabla 2. Características clínicas de los 3 fenotipos asociados a variantes patogénicas en el gen *ATP1A3*. Adaptada de Rosewich H *et al*, 2014⁷.

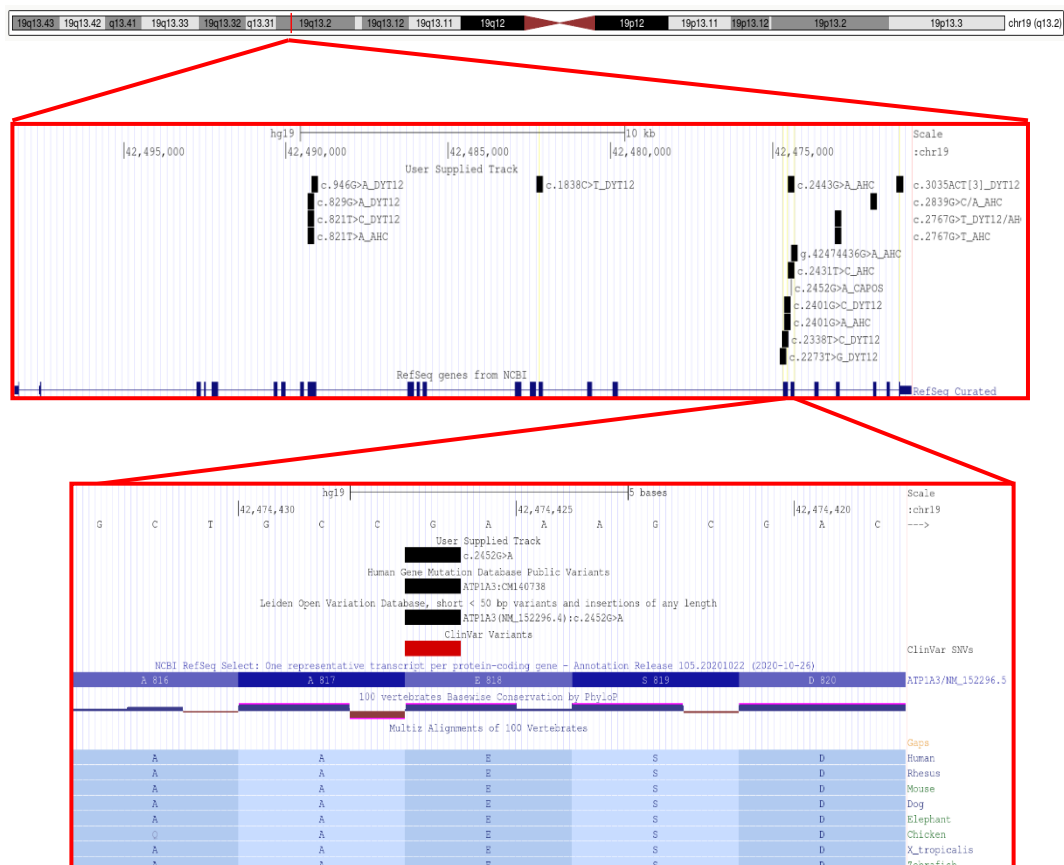


Figura 2. Variantes en el gen *ATP1A3* implicadas en las patologías AHC, DYT12 y CAPOS. Se destaca la variante que produce el síndrome de CAPOS mostrando la conservación del residuo afectado en otras especies. Adaptado de la UCSC Genome Browser.

BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. Nicolaides P, Appleton RE, Fryer A. Cerebellar ataxia, areflexia, pes cavus, optic atrophy, and sensorineural hearing loss (CAPOS): A new syndrome. *J Med Genet*. 1996;33(5):419–21.
2. Demos MK, Van Karnebeek CDM, Ross CJD, Adam S, Shen Y, Zhan SH, *et al*. A novel recurrent mutation in ATP1A3 causes CAPOS syndrome. *Orphanet J Rare Dis* [Internet]. 2014 Jan 28 [cited 2022 Jan 26];9(1):15. Available from: [/pmc/articles/PMC3937150/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2471150/)
3. González Plata A, Marcos Toledano MM, Correa Martínez L, Fernández-Burriel Tercero M. A new case of CAPOS/CAOS syndrome. *Neurologia*. 2020;35(8):612–4.
4. Chouksey A, Pandey S. ATP1A3 mutation presenting as CAPOS syndrome + dystonia phenotype. *Parkinsonism Relat Disord* [Internet]. 2020 Sep 1 [cited 2022 Jan 26];78:192–4. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32576493/>
5. McLean WJ, Smith KA, Glowatzki E, Pyott SJ. Distribution of the Na,K-ATPase alpha subunit in the rat spiral ganglion and organ of corti. *J Assoc Res Otolaryngol* [Internet]. 2009 Mar [cited 2022 Jan 26];10(1):37–49. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19082858/>
6. Sabouraud P, Riquet A, Spitz MA, Deiva K, Nevsimalova S, Mignot C, *et al*. Relapsing encephalopathy with cerebellar ataxia are caused by variants involving p.Arg756 in ATP1A3. *Eur J Paediatr Neurol* [Internet]. 2019 May 1 [cited 2022 Jan 26];23(3):448–55. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30862413/>
7. Rosewich H, Weise D, Ohlenbusch A, Gärtner J, Brockmann K. Phenotypic overlap of alternating hemiplegia of childhood and CAPOS syndrome. *Neurology* [Internet]. 2014 Aug 26 [cited 2022 Jan 26];83(9):861–3. Available from: <https://n.neurology.org/content/83/9/861>
8. Sharawat I, Kasinathan A, Suthar R, Sankhyan N. CAPOS Syndrome: A Rare ATP1A3-Related Disorder. *Ann Indian Acad Neurol* [Internet]. 2020 May 1 [cited 2022 Jan 26];23(3):397. Available from: [/pmc/articles/PMC7313598/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32576493/)

5-SÍNDROME DE KUFOR-RAKEB: DIAGNÓSTICO MULTIDISCIPLINAR INTEGRADO

Autores: Rubén Pérez de la Fuente¹, Eva María Sánchez Morla², Víctor Antonio Blanco Palmero³.

¹Servicio de Genética, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid.

²Servicio de Psiquiatría, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid.

³Servicio de Neurología, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid.

Palabras clave: Parkinson juvenil, Kufor-Rakeb, *ATP13A2*.

1. INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Parkinson es un trastorno neurodegenerativo común que suele aparecer sobre los 60 años de edad. El síndrome parkinsoniano se caracteriza por decremento en la amplitud o velocidad de los movimientos (bradicinesia), alteraciones en la marcha, temblor en reposo y/o rigidez, que pueden ir asociados a otros síntomas no motores. La incidencia del Parkinson aumenta bruscamente con la edad, no obstante sigue siendo muy rara en jóvenes y se estima que tan sólo un 5% de los casos de enfermedad de Parkinson se presentan antes de los 50 años de edad. Un estudio sobre la prevalencia de esta enfermedad estimó 0,8 por cada 100.000 entre los 0-29 años y 3 por cada 100.000 entre los 30-49 años. Se define como Parkinson de inicio temprano aquellos casos de presentación antes de los 40 años de edad, aunque hay autores que lo consideran hasta los 50 años¹.

El parkinsonismo juvenil se define como la presentación de síntomas y signos parkinsonianos de inicio antes de los 20 años. Se trata de un síndrome raro, heterogéneo y suele ser hereditario. La gran mayoría de estos pacientes no cumplen criterios clínicos de enfermedad de Parkinson ya que presentan otros síntomas atípicos como pueden ser: distonía, ataxia, espasticidad, deterioro cognitivo, alteraciones psiquiátricas. La etiología genética del parkinsonismo juvenil es conocida desde hace años. Diversas formas monogénicas se han descrito asociadas a un patrón de herencia autosómico recesivo, dominante y ligado al X. La mayoría de estos genes se encuentran asociados a un parkinsonismo juvenil atípico¹.

2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

2.1 Motivo de consulta:

Clínica delirante-alucinatoria con alteración del comportamiento.

2.2 Antecedentes personales:

Entre los antecedentes personales, destacan:

- Probable síndrome alcohólico fetal. Desarrollo psicomotor normal. Mal rendimiento académico. No déficit intelectual. Introversión.
- Fumadora desde los 15 años, comienza también consumo de alcohol (en abstinencia desde hace 9 años) y cannabis.

- Onicectomía de primer dedo de pie izquierdo por onicogripos.
- Dos abortos. Cesáreas en 2020 y 2021.

2.3 Antecedentes familiares:

Madre con depresión y alcoholismo desde la juventud (fallecida por neoplasia de mama). Sin antecedentes de enfermedades neurológicas en la familia.

2.4 Enfermedad actual:

A los 17 años comenzó con alucinaciones visuales y auditivas (estas en forma de voces imperativas de contenido heteroagresivo), así como vivencias delirantes de contenido fundamentalmente paranoide y místico, irritabilidad, insomnio y alteración del comportamiento. A los 20 años ingresó en Psiquiatría, diagnosticada de Esquizofrenia paranoide, con inicio de tratamiento antipsicótico, con irregular cumplimiento, por lo que se pautó tratamiento con antipsicótico de liberación prolongada (risperidona 37,5 mg/14 días). Tras el inicio de inyectables comenzó con "temblores" tanto de acción como de reposo, intermitentes, sin mioclonías, y lentitud al caminar. El seguimiento psiquiátrico fue errático. En los últimos 4 años sin tratamiento psicofarmacológico.

A los 32 años se evidenció disartria leve y alteración en la marcha progresiva, requiriendo de apoyos para la deambulación. Fue valorada por Neurología que realizó resonancia magnética (RM) craneal evidenciándose marcada atrofia supra e infratentorial para la edad de la paciente. La alteración en la marcha progresó, con caídas frecuentes, precisando movilizarse en silla de ruedas desde septiembre/21.

En septiembre/21 ingresó en Psiquiatría tras ser encontrada en vía pública, en estado de gestación (23 semanas estimadas, embarazo no controlado) verbalizando ideas delirantes de tintes místicos y paranoides, y alucinaciones visuales y auditivas, comenzando en ese momento con incontinencia urinaria de urgencia.

2.5 Exploración física:

Tensión arterial 125/90 mmHg, frecuencia cardíaca 85 lpm, temperatura 36,3°C. Funciones superiores: consciente, inatenta, desorientación parcial en tiempo. Lenguaje desorganizado sin elementos disfásicos, disartria moderada. Pares craneales: pupilas isocóricas y normorreactivas, campimetría por confrontación normal, leve limitación en la

supraversión con enlentecimiento de sacadas en el plano vertical, no diplopía ni nistagmo, no ptosis, no asimetría sensitivomotora facial, pares craneales bajos normales. Motor: Espasticidad leve en la flexoextensión de rodilla izquierda. Dificultad moderada para la flexión de la cadera y para el mantenimiento de posturas gravitatorias con miembros inferiores. Retracciones aquélicas en flexión. REM (*rapid eye movements*) +++/++++ generalizados, con aumento del área reflexógena y clonus aquélico izquierdo inagotable. Respuesta cutánea plantar: flexor bilateral. Sensibilidad: no hipoestesia tactoalgésica en miembros, leve hipopalestesia con gradiente distal en miembros inferiores. Coordinación: dismetría apendicular bilateral leve. Sedestación estable. Marcha incapaz de forma autónoma, espástica, realizando movimientos de circunducción con ambas piernas. Extrapiramidal: bradicinesia leve. Temblor de reposo y de acción bilateral de baja amplitud. Temblor mentoniano. Hipomimia moderada.

2.6 Exploración psicopatológica:

Consciente y orientada. Abordable, escasa colaboración. Aspecto muy desaseado, abandono de autocuidados. Embotamiento afectivo. Discurso disártrico, en ocasiones desorganizado, refiere ideación delirante poco estructurada y alucinaciones ("estoy embarazada de Dios", "las sombras de la muerte me dicen que si hablo contigo te mueres"), con soliloquios, afecto incongruente y angustia psicótica. Labilidad emocional ocasional. Niega ideas de contenido auto-heteroagresivo. Insomnio. Irritabilidad.

3. INFORME DEL LABORATORIO

En el estudio radiológico se observa una marcada prominencia de los espacios subaracnoideos, ventrículos y cisternas de la base consistentes con una atrofia cerebral severa desproporcionada para la edad de la paciente. También se puede visualizar una atrofia cerebelosa severa. Se identifica alteración de la señal en secuencias de susceptibilidad magnética en ambos lenticulares sugestiva de depósitos ferromagnéticos a ese nivel. No existen lesiones de sustancia blanca (Figura 1).

4. DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES

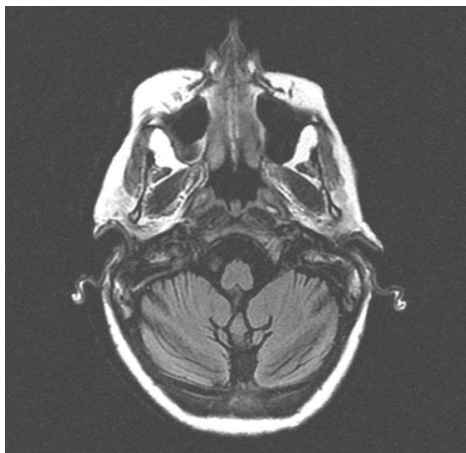


Figura 1. Corte axial del cerebelo donde se observa atrofia severa.

Sindrómicamente la paciente presenta un cuadro psicótico recurrente desde la adolescencia, al que progresivamente se sumaron temblor, lentitud leve y, desde los 32 años, alteración progresiva de la marcha y de las funciones cognitivas. Destaca en la exploración neurológica un parkinsonismo leve, piramidalismo moderado y alteración supranuclear de la mirada vertical.

La paciente fue diagnosticada inicialmente de esquizofrenia paranoide, pero la aparición de otros síntomas neurológicos en el curso de la enfermedad hace improbable este diagnóstico.

El consumo excesivo de alcohol puede favorecer la aparición de psicosis y cierto grado de atrofia cerebral y cerebelosa. No obstante, no explica el piramidalismo, el parkinsonismo, la alteración supranuclear de la mirada ni el curso progresivo.

La toma de antipsicóticos desde la adolescencia puede justificar o contribuir a la aparición de un síndrome parkinsoniano leve. No obstante, es fundamental descartar otras causas genéticas de parkinsonismo de inicio precoz, con patrón de herencia autosómico recesivo dada la ausencia de antecedentes familiares: mutaciones en gen de la parkina, *DJ1*, *PINK1*, *FBXO7*, *POLG* y, especialmente por los síntomas descritos, *ATP13A2*; así como la enfermedad de Wilson.

La combinación de una alteración supranuclear de la mirada, manifestaciones psiquiátricas, alteración de la marcha, disfunción cerebelosa y deterioro cognitivo obliga a descartar una enfermedad de Niemann Pick tipo C.

El fenotipo de la paciente podría ser similar al que aparece en algunas enfermedades lisosomales (lipofuscinosis neuronal, gangliosidosis, leucodistrofia metacromática, Krabbe...) pero la ausencia de epilepsia, de lesiones de sustancia blanca y de afectación de otros órganos las hace menos probables.

El piramidalismo, atrofia cerebelosa, déficits cognitivos y la alteración de la marcha de tipo espástico obligan a considerar las paraparesias espásticas complicadas genéticas.

La alteración de la señal en secuencias SWI (*Susceptibility Weighted Imaging*), de la RM hace que se consideren otras

enfermedades que cursan con depósito de hierro en el parénquima cerebral (NBIA).

Causas infecciosas, inflamatorias y endocrinológicas son menos probables, y se descartaron mediante un amplio estudio serológico y bioquímico.

5. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

Ante los antecedentes personales y la atrofia cerebral severa que presenta la paciente se solicita un estudio genético por parte del servicio de neurología.

Se ha realizado un estudio mediante secuenciación masiva del exoma completo (*kit xGen Exome Panel v2.0*). Se han estudiado 15 genes incluidos en el panel de Parkinson hereditario de inicio precoz, obteniéndose las siguientes coberturas a una profundidad de lectura >20X: *ATP13A2* (100%), *ATP6AP2* (93.9%), *DNAJC13* (99.6%), *DNAJC6* (100%), *FBXO7* (100%), *HTRA2* (100%), *LRRK2* (99.9%), *PARK7* (100%), *PINK1* (100%), *PLA2G6* (100%), *PRKN* (100%), *SLC6A3* (100%), *SNCA* (100%), *SYNJ1* (100%), *UCHL1* (100%).

El estudio identifica dos tipos de variantes genéticas en heterocigosis en el gen *ATP13A2* (transcrito de referencia utilizado NM_022089.3), que pese a no encontrarse descritas en la bibliografía, las variantes bialélicas de pérdida de función son mecanismo de patogenicidad conocido asociadas al síndrome de Kufor-Rakeb² y a paraparesia espástica hereditaria de tipo complejo (SPG78)³. Con la información del fenotipo sugestivo de parkinsonismo juvenil atípico y al afecto radical de ambas variantes son clasificadas como variantes patogénicas asociadas a enfermedad.

Por un lado, se identifica una variante puntual c.917G>A, p.(Trp306Ter), que consiste en una transición de una G (guanina) por una A (adenina) en el exón 11 del gen y que origina la aparición de un codón de parada prematuro en el ARN mensajero (Figura 2), como consecuencia, éste podría ser degradado por el mecanismo de degradación mediado por variantes sin sentido o bien formar una proteína truncada al 25% de su secuencia nativa.

Por otro lado, en la detección de CNVs (grandes deleciones y duplicaciones) se utilizó la herramienta *ExomeDepth*, la cual genera una línea base de cobertura por exón empleando

un pool de muestras "control". La cobertura de cada exón de la muestra problema se compara con cada uno de las coberturas de los exones de la línea base. Este análisis revela una posible deleción en heterocigosis del exón 1 del gen *ATP13A2*, ya que se observan 92 lecturas frente a las 156 lecturas esperadas de los controles (ratio 0,59) para esta región (Figura 3).

Se trata de una región compleja técnicamente de confirmar la posible deleción ya que el exón 1 sólo se compone de 8 nucleótidos codificantes (incluido el codón de inicio) y además éste y sus regiones adyacentes contienen un alto porcentaje de GC (guaninas y citosinas) por lo que el diseño de una sonda para una PCR a tiempo real es dificultoso. Por todo ello y con el fin de confirmar esta segunda variante se diseña una *Long Range PCR* cuyos cebadores hibridan en los exones anterior (gen adyacente *SDHB*) y posterior del gen. El amplificado resultante se secuencia mediante NGS (*Next-Generation Sequencing*) y confirma una deleción de 8,8kb y que abarca la región genómica chr1:17336716-173344506 (hg19) afectando totalmente al exón 1 del gen *ATP13A2*.

6. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

La paciente es heterocigota para dos variantes patogénicas en el gen *ATP13A2* que en el caso de encontrarse en heterocigosis compuesta (una en cada alelo del gen) apoyaría su patogenicidad. El fenotipo de la paciente combina diversos elementos sindrómicos ya descritos en relación a mutaciones de este gen: síndrome de Kufor-Rakeb (parkinsonismo, piramidalismo, demencia, alteración supranuclear de la mirada) y SPG78 (paraparesia espástica, disartria, incontinencia urinaria).

Los estudios genéticos en los familiares de la paciente se encuentran actualmente en proceso.

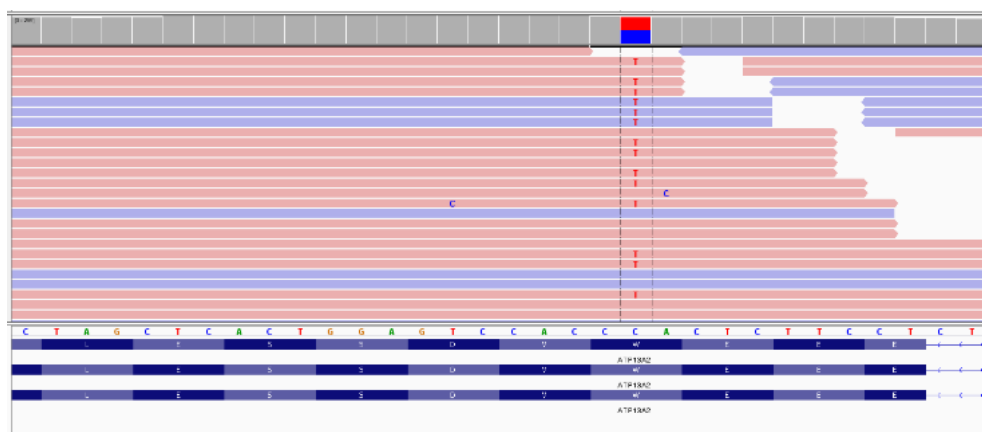


Figura 2. Alineamientos que contienen la variante c.917G>A, p.(Trp306Ter) visualizados mediante el software IGV (*Integrative Genomics Viewer*). Elaboración propia.

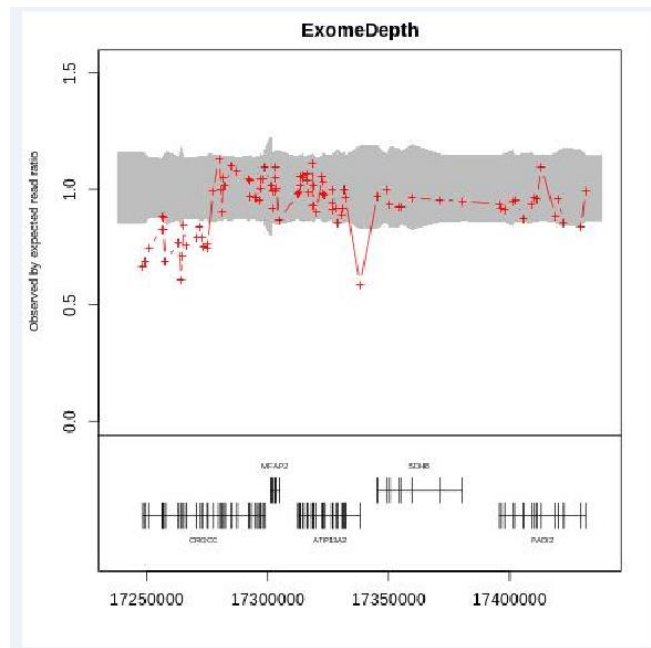


Figura 3. Sospecha de una deleción heterocigota del exón 1 del gen *ATP13A2* visualizada mediante *ExomeDepth*. Elaboración propia.

7. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

El síndrome de Kufor-Rakeb fue descrito por primera vez en 1994 donde detallaban una familia de origen árabe consanguínea con 5 miembros afectados de un síndrome neurológico inusual caracterizado por signos pálido-piramidales con síntomas de parkinsonismo severo y evidencias del tracto cortico-espinal. Todos ellos tenían demencia, parálisis supranuclear de la mirada vertical y una atrofia cerebral generalizada⁴. Como fenotipo característico que difiere de otros parkinsonismos juveniles se pueden

identificar depósitos de hierro en los ganglios basales por lo que este gen se puede englobar dentro de los síndromes de neurodegeneración con acumulación de hierro cerebral (NBIA)⁵.

A lo largo de los años se han diagnosticado de esta entidad numerosos pacientes no relacionados y de orígenes étnicos distintos. Existe una gran variedad de variantes genéticas distribuidas a lo largo de todo el gen *ATP13A2* como son las deleciones grandes que involucran uno o varios exones,

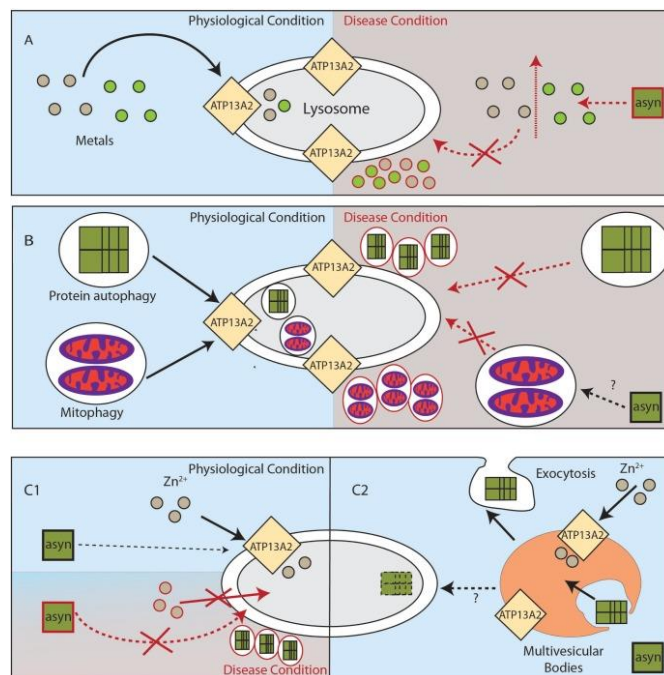


Figura 4. Representación de las funciones de *ATP13A2* en condiciones normales y patológicas. La deficiencia del transportador contribuye a efectos citotóxicos por acúmulo de metales o determinadas proteínas (α -sinucleína 'asyn').

Tomado de: da Fonseca *et al*, 2014.

variantes de cambio de sentido, sin sentido y de desplazamiento del marco de lectura⁶.

La etiopatogenia de la enfermedad ha sido estudiada a lo largo de los años. El gen *ATP13A2* codifica para un transportador transmembrana lisosomal tipo P5 que está involucrado en el transporte de cationes, en concreto el Zn^{2+} . La concentración intracelular libre de Zn^{2+} es crucial en el correcto funcionamiento del sistema nervioso central. La dishomeostasis de este oligoelemento deteriora la función mitocondrial y lisosomal, lo que conduce a la pérdida de la capacidad bioenergética mitocondrial y a la acumulación de sustratos lisosomales como la α -sinucleína y la lipofusina^{2,7}, esto justifica como ha sido asociado a diferentes enfermedades neurodegenerativas como la del presente estudio. No obstante, la función del transportador *ATP13A2* en el lisosoma sigue sin ser clara. Estudios recientes relacionan este transportador con el tráfico de determinadas poliaminas⁸.

BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. Niemann N, Jankovic J. Juvenile parkinsonism: Differential diagnosis, genetics, and treatment. *Parkinsonism Relat Disord*. 2019;67:74–89.
2. Park JS, Koentjoro B, Davis RL & Sue CM. Loss of *ATP13A2* impairs glycolytic function in Kufor-Rakeb syndrome patient-derived cell models. *Parkinsonism Relat Disord*. 2016; 27:67–73.
3. Estrada-Cuzcano A, Martin S, Chamova T, Synofziket M, Timmann D, Holemans T, *et al*. Loss-of-function mutations in the *ATP13A2/PARK9* gene cause complicated hereditary spastic paraplegia (SPG78). *Brain*. 2017;140(2):287–305.
4. Najim Al-Din AS, Wriekat A, Mubaidin A, Dasouki M, Hiari M. Pallido-pyramidal degeneration, supranuclear upgaze paresis and Kufor-Rakeb syndrome. 1994;89(5):347–352.
5. Brüggemann N, Hagenah J, Reetz K, Schmidt A, Kasten M, Buchmann I, *et al*. Recessively inherited parkinsonism: effect of *ATP13A2* mutations on the clinical and neuroimaging phenotype. *Arch. Neurol*. 2010;67(11):1357–1363.
6. Yang X, Xu Y. Mutations in the *ATP13A2* gene and Parkinsonism: A preliminary review. *Biomed Res Int*. 2014;2014: 371256
7. Lopes da Fonseca T, Outeiro TF. *ATP13A2* and Alpha-synuclein: a Metal Taste in Autophagy. *Exp Neurobiol*. 2014;23(4):314–323.
8. van Veen S, Martin S, Van den Haute C, Benoy V, Lyons J, Vanhoutte R, *et al*. *ATP13A2* deficiency disrupts lysosomal polyamine export. *Nature*. 2020; 578:419–424.

6- SÍNDROME MANO-PIE-GENITAL ORIGINADO POR DELECIÓN

Autores: Ylenia Pérez Arnaiz¹, María José Gómez Rodríguez², Juan Francisco Quesada Espinosa²

¹Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

²Servicio de Genética, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Palabras clave: *HOXA13*, anomalías esqueléticas, tracto urogenital

1. INTRODUCCIÓN

El síndrome mano-pie-genital (SMPG) (OMIM#140000) fue descrito por primera vez en 1970 por Stern y col en una familia afecta de una cardiopatía congénita en uno de sus miembros. Tras la anamnesis del caso índice, se observaron, además, anomalías en manos y pies. En la historia familiar se identificó que, de los 20 individuos referidos, 11 de ellos también presentaban distintas malformaciones en las extremidades. Por ello, se realizó un análisis fenotípico más completo a estos familiares, descubriendo que 4 de las mujeres afectas de anomalías esqueléticas presentaban, también, anomalías del tracto genitourinario. Al conjunto de signos y síntomas que presentaba esta familia (anomalías esqueléticas y alteraciones urogenitales), se le denominó SMPG¹. Sin embargo, no fue hasta 1997 cuando Mortlock y col, atribuyeron la causa de estos rasgos sindrómicos a la presencia de variantes patogénicas en el gen *HOXA13*².

El SMPG es una enfermedad rara, con un patrón de herencia autosómico dominante. Está causada por la haploinsuficiencia del gen *HOXA13*, localizado en la citobanda 7p15³.

Este síndrome se caracteriza por la presencia de anomalías esqueléticas, principalmente en manos y pies, y de alteraciones del tracto genitourinario. Entre las alteraciones esqueléticas, destacan la presencia de pulgares cortos, acortamiento de las falanges medias, clinodactilia del quinto dedo y fusión de las falanges medias y distales de los dedos de los pies. Las anomalías esqueléticas presentan penetrancia completa, pero en algunos casos son tan leves que es necesario recurrir a técnicas de imagen para observarlas. Se estima que el 50% de los pacientes afectados presentan alteraciones urogenitales con expresividad variable, destacando la presencia de hipospadias y criptorquidia en varones y de defectos en la fusión de los conductos de Müller o útero bicornue en mujeres. Los individuos afectados son fértiles, pero las alteraciones en el aparato genitourinario aumentan el riesgo de abortos espontáneos, muerte fetal anteparto o parto pretérmino. Además, se han descrito en la literatura otros pacientes con fenotipos más graves al presentar reflujo vesicouretral, infecciones recurrentes del tracto genitourinario o pielonefritis crónica^{4,5}.

2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

2.1 Motivo de consulta:

Mujer de 44 años remitida a consulta de Genética desde el Servicio de Endocrinología por rasgos compatibles con síndrome de Turner, junto a discapacidad intelectual,

contractura de manos fija desde el nacimiento, pérdida de audición y bronquiectasias, por lo que se solicita estudio genético mediante array-CGH.

2.2 Antecedentes personales:

Paciente nacida de parto distócico prematuro programado que precisó incubadora.

Presenta fenotipo con rasgos dismórficos (pabellones auriculares de implantación baja, cuello ancho, facies asimétrica con nariz ensanchada) junto a discapacidad psíquica y discapacidad motora de miembros superiores y camptodactilia. La paciente es independiente para actividades básicas de la vida diaria.

Diagnosticada de diabetes mellitus tipo 2, hipertensión arterial y dislipemia. Actualmente controlada con tratamiento. Valorada por el Servicio de Endocrinología por hipotiroidismo subclínico sin tratamiento y amenorrea en posible contexto de menopausia precoz a los 37 años.

La paciente ha sido estudiada en el Servicio de Neumología (broquiectasias en lóbulo pulmonar inferior izquierdo e insuficiencia respiratoria nocturna), Servicio de Nefrología (daño renal crónico en estadio IIIa2 según la guía internacional KDIGO), Servicio de Otorrinolaringología (hipoacusia mixta bilateral) y Servicio de Oftalmología (intervenida de catarata del ojo derecho y diagnosticada de glaucoma ocular).

2.3 Antecedentes familiares:

Padres no consanguíneos. Sin antecedentes familiares de interés.

2.4 Enfermedad actual:

Paciente con discapacidad intelectual, contractura de manos fija congénita, pérdida de audición y bronquiectasias.

3. INFORME DEL LABORATORIO

Se realiza estudio genético a partir de ADN extraído de linfocitos de sangre periférica. Se lleva a cabo la técnica de arrays CGH con la plataforma KaryoNIM 60k, diseñado por NIMGenetics®, para la detección de alteraciones submicroscópicas distribuidas a lo largo de todo el genoma. Para el análisis bioinformático, se utiliza el ensamblado hg19 del genoma de referencia y el estadístico ADM-2 como parámetro de análisis del número de copias de ADN presentes para las diferentes sondas. Se establece como punto de corte para informar como alteración en el número de copias del ADN aquella que tenga un mínimo de tres sondas consecutivas.

Como resultado del estudio, se detecta una delección patogénica de 3'9 Mb en heterocigosis en la región cromosómica 7p15.2p14.3 que contiene 30 genes, 6 de ellos recogidos en el listado OMIM. Cabe destacar la delección completa del clúster HOXA. Tabla 1.

4. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Delección patogénica de 3,9 Mb en la región cromosómica 7p15.2p14.3, que da lugar al síndrome mano-pie-genital ((OMIM#140000), originado por la haploinsuficiencia del gen *HOXA13*, compatible con el fenotipo de la paciente.

5. EVOLUCIÓN

Tras el diagnóstico genético de SMPG, se deriva a la paciente al Servicio de Medicina Interna para valoración general y del tracto urogenital.

6. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

La familia de genes *HOX* consta de un grupo de 39 genes agrupados en cuatro clústeres distintos situados en distintas regiones cromosómicas: *HOXA* (7p15.2), *HOXB* (17q21.32), *HOXC* (12q13.2), *HOXD* (2q31.1). Todos los genes que conforman dicha familia se encuentran muy conservados evolutivamente y codifican factores de transcripción que juegan un papel clave en el desarrollo embrionario de distintos órganos y estructuras como son el sistema nervioso central (SNC), el esqueleto axial, las extremidades distales, los órganos hematopoyéticos, el intestino, el tracto urogenital y los genitales internos y externos^{5,6}.

En 1997, se asoció el síndrome SMPG con alteraciones en el gen *HOXA13*, gen que forma parte del clúster *HOXA*². Este gen en concreto juega un papel importante en el desarrollo de las manos y los pies, así como en la formación del tracto urogenital.

A nivel estructural, el gen *HOXA13* consta de dos exones. El exón 1 se caracteriza por presentar 5 regiones ricas en codones que codifican para el aminoácido alanina, conocidas como regiones de poli-alanina. El exón 2 codifica para el dominio conocido como homeodominio u homeobox. Este

dominio proteico es clave en el desarrollo embrionario de los órganos y estructuras anteriormente mencionados⁵.

En la literatura se han descrito diferentes alteraciones en el gen *HOXA13* asociadas al SMPG. Entre ellas encontramos variantes de un único nucleótido (SNVs, del inglés *Single Nucleotide Variants*), variaciones de número de copias (CNVs, del inglés *Copy Number Variants*) y expansión de poli-alanina; esta última, causa genética de la mayoría de casos de SMPG descritos.

Dentro de las SNVs descritas, aparecen tanto variantes truncantes o nonsense como variantes de cambio de sentido o missense. Todas estas alteraciones genéticas intervienen de forma distinta en la expresión génica. Las variantes patogénicas de cambio de sentido producen ganancia de función dando fenotipos más severos. Sin embargo, las variantes patogénicas truncantes y la expansión de poli-alanina dan lugar a proteína Hox-A13 no funcional y a un fenotipo más leve de la enfermedad⁵.

En cuanto a las CNVs asociadas a SMPG, solo se han descrito delecciones intersticiales que incluyen la región cromosómica 7p15 y con ella el gen *HOXA13*. Los casos descritos en la literatura son escasos, abarcando las regiones cromosómicas 7p15p21, dando lugar a delecciones con tamaños genómicos entre 2,5 Mb y 12,7 Mb. Es importante resaltar que todos los pacientes afectados de SMPG causado por delección comparten pérdidas que incluyen, como mínimo, los siguientes genes: clúster *HOXA*, *SKAP2*, *EVX1*, *MIRNA196B*.

Cabe destacar que los pacientes con síndrome SMPG causado por delección no comparten el fenotipo completo con aquellos pacientes afectados del síndrome SMPG debido a variantes puntuales o expansión de la región de poli-alanina. Además de las alteraciones esqueléticas y del tracto urogenital, los pacientes afectados debido a una pérdida genómica presentan fenotipos más graves, con discapacidad intelectual y rasgos faciales característicos⁵.

La discapacidad intelectual en el síndrome mano-pie-genital originado por delección presenta penetrancia completa. Este déficit es debido a la delección del gen *HOXA1*, clave en el desarrollo del SNC. Además, el miARN196b es clave para la correcta expresión génica del gen *NRC2*, implicado en el

<i>HOXA1</i> (*)	<i>HOXA7</i>	<i>HOXA-AS2</i>	<i>CBX3</i>	<i>TAX1BP1</i>
<i>HOXA2</i> (*)	<i>HOXA9</i>	<i>HOXA-AS3</i>	<i>SKAP2</i>	<i>JAZF1</i>
<i>HOXA3</i>	<i>HOXA10</i>	<i>HNRNPA2B1</i> (*)	<i>MIR196B</i>	<i>CREB5</i>
<i>HOXA4</i>	<i>HOXA11</i> (*)	<i>SNX10</i> (*)	<i>HOTTIP</i>	<i>TRIL</i>
<i>HOXA5</i>	<i>HOXA13</i> (*)	<i>MIR148A</i>	<i>EVX1</i>	<i>CPVL</i>
<i>HOXA6</i>	<i>HOXA11-AS</i>	<i>NFE2L3</i>	<i>HIBADH</i>	<i>CHN2</i>

Tabla 1. Genes delecionados en la paciente del caso clínico. (*) Genes que se encuentran en el listado OMIM con fenotipo asociado.

desarrollo neuronal y, en consecuencia, contribuyendo a la afectación intelectual. Por otro lado, los genes *HOXA5* y *HOXA11* intervienen en el crecimiento, por lo que es común que estos pacientes presenten una baja estatura. Por último, los genes *HOXA1* y *HOXA2* son clave en el desarrollo de la pinna (oído externo) presentado algunos pacientes microtia⁵.

La fertilidad se encuentra conservada y al ser una enfermedad con patrón de herencia autosómico dominante, el riesgo de recurrencia de hijos afectados de síndrome mano-pie-genital es de un 50% en caso de padres afectados y de menos de un 1% en caso de variantes *de novo*⁵.

BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. Stern AM, Gall JCJ, Perry BL, Stimson CW, Weitkamp LR, Poznanski AK. The hand-foot-uterus syndrome. 1970. J Pediatr 77:109-116)
2. Mortlock, D., Innis, J. Mutation of *HOXA13* in hand-foot-genital syndrome. Nat Genet 15, 179–180 (1997).
3. Tas E, Sebastian J, Madan-Kheterpal S, Sweet P, Yatsenki AN, Pollock N et al. Familial deletion of the *HOXA* gene cluster associated with Hand-Foot-Genital syndrome and phenotypic variability. Am J Med Genet Part A 173A, 221-224 (2017)
4. Witchel SF, Lee PA. Ambiguous Genitalia. En: Sperling Pediatric Endocrinology. 5ed. Philadelphia: Elsevier; 2021. 123-174
5. Yokoyama E, Smith-Pellegrin DL, Sánchez S, Molina B, Rodríguez A, Juárez R et al. 7p15 deletion as the cause of hand-foot-genital syndrome: a case report, literature review and proposal of a minimum region for this phenotype. Molecular Cytogenetics, 10: 42 (2017)
6. Pezzani L, Milani D, Manzoni F, Baccarin M, Silipigni R, Gueneri S et al. *Hoxa* genes cluster: clinical implications of the smallest deletion. 2015. Italian Journal of Pediatrics 41: 31

7-SÍNDROME DE SCHEIE (MUCOPOLISACARIDOSIS TIPO I)

Autores: Daniel Párraga García, José Miguel Comino Cáceres

Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Palabras clave: Mucopolisacaridosis, Scheie, Hurler

1. INTRODUCCIÓN

La mucopolisacaridosis tipo I es una enfermedad genética de herencia autosómica recesiva clasificada dentro del grupo de enfermedades del metabolismo lisosomal.

Tiene una incidencia de 1 a 2 por cada 100.000 nacidos vivos, siendo el 20% de los casos del tipo de mucopolisacaridosis I más leve.¹

En esta patología se produce una acumulación de metabolitos en el organismo, concretamente de los glucosaminoglucanos dermatán sulfato y heparán sulfato. Esto es debido a un fallo en la enzima α -L-iduronidasa, encargada de metabolizar los citados sustratos, produciendo la acumulación de los mismos.

El acúmulo de heparán sulfato produce principalmente síntomas neurológicos mientras que el dermatán sulfato produce miocardiopatías y valvulopatías.

La enfermedad se puede manifestar con distinta intensidad, llamándose Hurler a la manifestación más grave, Scheie a la más leve, y Hurler-Scheie a la intermedia.

2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

2.1 Motivo de consulta:

Varón de 51 años que se encuentra en seguimiento de la enfermedad de Scheie.

2.2 Antecedentes personales:

Entre los antecedentes médicos personales destacan:

- Desde los 8 años, en el momento del crecimiento, comenzó con deformidad en el aparato locomotor que requirió correcciones ortopédicas y quirúrgicas, con una cirugía de un dedo de la mano derecha.
- Alteraciones de la visión desde niño con trasplante de córneas. Estuvo en tratamiento con acetazolamida por patología ocular con empeoramiento.
- Hernia umbilical diagnosticada a los 12 años, intervenida en varias ocasiones.
- Osteotomías (intervención quirúrgica que consiste en enderezar la extremidad inferior afectada, de manera que el reparto de cargas en la rodilla tenga una distribución homogénea o bien en caso de existir alguno de los compartimentos deteriorados, disminuir la carga que dicha superficie soporta) con 12-13 años de edad en ambos miembros inferiores y en los brazos.
- En seguimiento por el Servicio de Cardiología por soplo de la válvula aórtica diagnosticado a los 15 años de edad.
- Varias hernias inguinales, apareciendo por primera vez a los 23 años de edad.

- Escoliosis.
- En seguimiento por el Servicio de Oftalmología por quiste en retina cada 2-3 meses y una vez al año para revisión corneal.
- Paciente trasplantado de córnea en el año 2003.
- Cirugía de menisco de rodilla derecha con 40 años.
- Cirugía de varios quistes.

Entre los antecedentes sociales y profesionales destacan:

- Discapacidad del 65%. Vive con su hermano. Tiene limitaciones para coger objetos por importante afectación en manos (pérdida de sensibilidad y fuerza). Dificultad para subir escaleras y limitación para agacharse (no puede ponerse en cuclillas). Puede usar cubiertos. Se ducha sin ayuda, aunque con dificultad.

2.3 Antecedentes familiares:

Entre los antecedentes familiares destacan:

- Madre con esteatosis hepática, es hija única.
- Padre fallecido hace 8 años por cardiopatía isquémica.
- Abuelo materno muerto de neumonía.
- Abuela materna con sospecha de tumor cerebral con 62 años.
- Hermanos de padre con antecedentes de cardiopatía isquémica.

2.4 Enfermedad actual:

Derivado desde otro hospital por reciente diagnóstico de enfermedad de Hurler-Scheie.

2.5 Exploración física:

Dolores musculares y contracturas. Disnea de grandes esfuerzos. Se recomienda valoración periódica capacidad pulmonar.

No palpitaciones, no edemas en miembros inferiores (MMII). Ocasionalmente calambres en MMII. No cefaleas habituales. No molestias urinarias. No molestias digestivas. No trastornos del ánimo. Apetito normal

Como resumen de la exploración física encontramos:

- Medidas: 55 Kg de peso, 1,59 m de altura, presión arterial de 103/79 mmHg.
- Paciente de talla corta. Cuello corto.
- Baja implantación de los pabellones auriculares.
- Engrosamiento leve de los rasgos faciales.
- Presenta "pectus excavatum" (malformación genética en el pecho, que hace que varias costillas y el esternón crezcan de forma anormal).
- Hiperplasia lingual, boca pequeña

- Deformidad de la columna vertebral y manos con forma de garra.
- Soplos sistólicos en focos aórtico y mitral.
- Hepatomegalia.
- MMII sin edemas.
- No focalidad neurológica.

3. INFORME DEL LABORATORIO

Tras la sospecha de enfermedad metabólica, se realiza el análisis bioquímico de enfermedades metabólicas hereditarias.

Se realiza análisis de glicosaminoglicanos (GAGs) en orina, obteniendo el siguiente resultado:

- GAG: 19 mg/mmol de creatinina (valor de referencia <5,1 mg/mmol).
- El análisis fraccionado de GAGs muestra, sobre todo, elevación de dermatán sulfato.

Por otro lado, se realiza el análisis de enzimas en leucocitos en sangre total, obteniéndose los siguientes resultados:

- Encima α -iduronidasa: niveles indetectables (Valor de referencia 5,2-33,0 nmol/h/mg).

4. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

Para realizar el análisis de variantes, se envía al laboratorio una muestra anticoagulada de sangre a temperatura ambiente del paciente.

Es necesario para el análisis de dicha muestra el cumplimentar el documento de consentimiento informado.

Tras el envío de las muestras de sangre indicada anteriormente, esta se analiza por secuenciación masiva de nueva generación (NGS), con comprobación de las variantes por secuenciación Sanger.

El resultado del estudio es que el paciente es heterocigoto compuesto para las variantes probablemente patogénicas c.47C>A (p. Ser16*) y c. 1475G>C (p.Arg492Pro), en los exones 1 y 10 del gen *IDUA*.

Para conocer si ambas variantes se encuentran en *trans* y son compatibles con la herencia autosómica recesiva de la enfermedad, se realiza estudio de segregación familiar solicitando muestra a la madre (del padre no se puede obtener ya que ha fallecido). En este estudio se concluye que solo la variante c.1475G>C (p.Arg492Pro) ha sido heredada de la madre por lo que en el caso índice se encuentran en *trans*, siendo compatible con el Síndrome de Hurler (Mucopolisacaridosis tipo I).

No se puede confirmar si la variante c.47C>A (p. Ser16*) es *de novo* u origen paterno.

5. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Variantes compatibles con sospecha clínica de mucopolisacaridosis tipo I leve (Síndrome de Scheie).

6. EVOLUCIÓN

Tras el diagnóstico de la mucopolisacaridosis tipo I leve (Síndrome de Scheie), se inicia tratamiento con Aldurazyme® (laronidasa).

El Aldurazyme® (laronidasa) es un tratamiento enzimático sustitutivo a largo plazo en pacientes diagnosticados de mucopolisacaridosis tipo I o enfermedad de Hurler (deficiencia de α -L-iduronidasa) para el tratamiento de las manifestaciones no neurológicas.

Como precauciones a la pauta de este tratamiento que se administra por perfusión continua, existe la posibilidad de desarrollar reacciones asociadas con la perfusión, algunas de estas reacciones pueden ser graves, con fallo respiratorio, distrés, broncoespasmo y bradicardia, pudiendo aparecer hasta 3 horas después de suspendida la perfusión intravenosa. Es por ello que se pauta paracetamol 650mg y maleato de dexclorfeniramina (Polaramine®) 2mg 30 minutos antes de la perfusión.

Tras el tratamiento, se hace un seguimiento bioquímico obteniendo los resultados que aparecen en la Tabla 1.

PARÁMETROS (Valores de referencia)	Control 1	Control 2
Condroitín Sulfato (0,3-1,1 mg/mmol Creatinina)	3,6	2,1
Dermatán Sulfato (0,3-2,4 mg/mmol Creatinina)	13,7	5,3
Heparán Sulfato (0,2-2,3 mg/mmol Creatinina)	35,3	4,6
Keratán Sulfato (2,0-12,9 mg/mmol Creatinina)	3,1	0,7

Tabla 1. Evolución de los Glucosaminoglicanos (GAGs) de un paciente con Síndrome de Hurler-Scheie antes y después del tratamiento enzimático. Elaboración propia.

El paciente acude al hospital de día a recibir terapia enzimática y refiere estabilidad clínica. Analítica sin alteraciones significativas.

Se seguirán realizando controles en unos meses.

7. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

Actualmente los dos tratamientos principales que existen para abordar esta enfermedad son:

- Trasplante de médula ósea o de células madres hematopoyéticas, procedentes de sangre periférica o de cordón umbilical.
- Tratamiento enzimático sustitutivo (recomendado para pacientes igual o menor a 2 años, Figura 1) con el objetivo de alcanzar una mínima actividad enzimática que permita evitar la acumulación de GAGs, siendo necesario tan solo el 1-2% de la actividad enzimática residual.³

La mayor parte de los enfermos, necesitan ser intervenidos quirúrgicamente a lo largo de su vida, siendo las intervenciones más frecuentes:

- Inserción de tubos de drenaje timpánico en casos de otitis media serosa.
- Descompresión nerviosa causada por el síndrome del túnel carpiano.
- Descompresión medular.
- Trasplante corneal.
- Correcciones dentarias.

De cara a un futuro, es posible que el tratamiento de elección para estos pacientes sea la terapia génica, si bien el desarrollo de esta tecnología está aún en fases muy iniciales.

Los primeros síntomas del Síndrome de Hurler (manifestación grave), ocurren a partir de los dos meses de

vida, siendo la aparición de estos síntomas en el Síndrome de Scheie (manifestación leve) a los 5 años de edad, siendo el diagnóstico de estos pacientes en torno a los 10-20 años.

La muerte en la manifestación más grave ocurre antes de los 10 años, ocasionando obstrucción de la respiración, infecciones de la vía aérea y/o complicaciones cardíacas. En la forma intermedia la supervivencia suele alcanzar los 20-30 años de edad.

Las manifestaciones tempranas de la enfermedad son muy inespecíficas, requiriendo un alto grado de sospecha por parte del clínico para poder diagnosticarla. El engrosamiento de los rasgos faciales, la displasia esquelética progresiva y la giba lumbar suelen aparecer al año. Otro síntoma es la pérdida de audición, así como la discapacidad intelectual, aunque no siempre ocurre esto último en algunos pacientes.

Para diagnosticar la mucopolisacaridosis tipo I, se requiere demostrar baja o nula actividad de la enzima α -L-iduronidasa en leucocitos o fibroblastos cultivados, siendo la excreción urinaria de glucosamínglucanos una prueba complementaria muy útil.

La mejora del pronóstico y la calidad de vida de los pacientes con las formas más leves de mucopolisacaridosis I (Scheie y Hurler-Scheie) ha sido radical desde la implantación del tratamiento enzimático sustitutivo con laronidasa.

En la clase más grave (Síndrome de Hurler), el uso de laronidasa no es tan eficaz, ya que no atraviesa la barrera hematoencefálica y no podría actuar sobre las manifestaciones neurológicas de la enfermedad. No obstante, el uso temprano de la terapia enzimática podría mejorar las funciones cardíacas y respiratorias, facilitando a su vez la intervención de trasplante de médula ósea, siendo este el tratamiento de elección en estos casos (Figura 1).

BIBLIOGRAFIA ESPECÍFICA

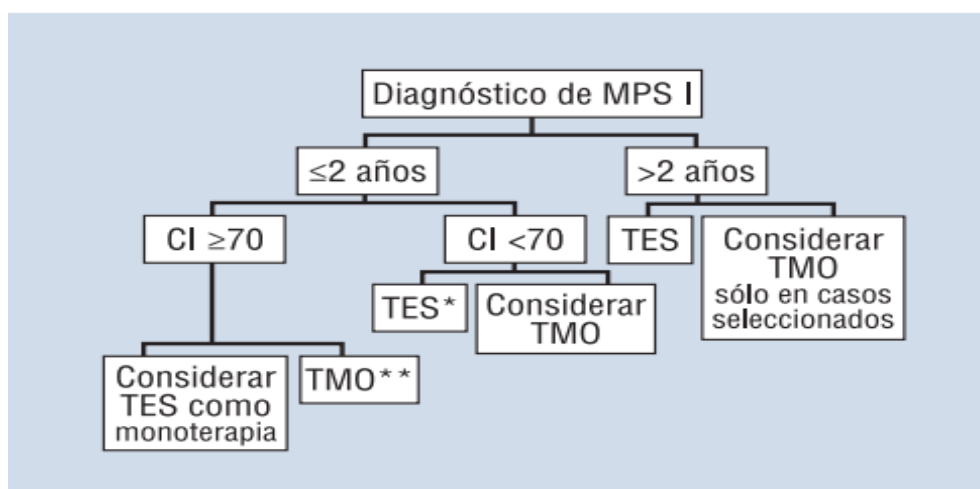


Figura 1. Algoritmo de tratamiento. MPS I (Mucopolisacaridosis tipo I). CI (capacidad inspiratoria). TES (tratamiento enzimático sustitutivo). TMO (Trasplante de médula ósea). Adaptado de: Muenzer J, 2003.

1. Pineda-Galindo, LF, Moranchel-García L. Síndrome de Hurler-Scheie: mucopolisacaridosis tipo I. In Med Int Méx. 2015; 31:99-105.
2. Alentado Morell N, Cabo Masip T, Dalmau Serra J. Mucopolysaccharidosis type I: Clinical courses of two patients after 30 months of enzyme replacement therapy Homocysteine and disease. Acta Pediatr Esp. 2007; 65(5):241-245.
3. Muenzer J, Wraith JE, Clarke LA. Treatment and management guidelines for MPS I. Pediatrics. 2009;123(1):19-29.

BIBLIOGRAFIA GENERAL

- González Hernández Á. Principios de bioquímica clínica y patología molecular 3ªed. Barcelona: Elsevier; 2019.

BLOQUE III

GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA

8-INFERTILIDAD MASCULINA POR MORFOLOGÍA ALTERADA: GLOBOZOOSPERMIA

Autores: Alba María Fernández del Pozo, Cecilia Cueto-Felgueroso Ojeda.

Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos, Hospital Universitario 12 de octubre, Madrid

Palabras clave: Globozoospermia, Seminograma, Infertilidad.

1. INTRODUCCIÓN

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la infertilidad se define como la incapacidad en la pareja para lograr un embarazo espontáneo tras un periodo de tiempo estimado de un año manteniendo relaciones sexuales sin métodos anticonceptivos o de planificación familiar.

El cambio en los hábitos de vida, los factores ambientales (contaminación, estrés...), las tendencias socioculturales y la predisposición de las parejas a retrasar cada vez más el momento de concebir, hace que estemos ante uno de los problemas sanitarios más relevantes del siglo XXI.

Se estima que la infertilidad afecta a 186 millones de personas en todo el mundo. En España, la tasa de infertilidad se sitúa entre el 15-17% de las parejas, teniendo además una tendencia ascendente preocupante ya que se estima que en los próximos años esta cifra aumente hasta el 18-25%.

Las consultas y centros de reproducción asistida han visto aumentada su carga asistencial en sus últimos años de forma exponencial. Según los datos de la Sociedad Española de Fertilidad, cada año se realizan en España 50.000 tratamientos de fecundación in vitro y casi 30.000 de inseminación artificial.

Desde el punto de vista biológico, se considera que un 10% de los problemas reproductivos de la pareja es de causa mixta y un 40% de causa femenina, mientras que aproximadamente la mitad de los casos de esterilidad se atribuyen al factor masculino, encontrándose la causa en un 60-70% de los casos (malformaciones congénitas, alteraciones genéticas, infecciones del aparato genitourinario, problemas hormonales...), mientras que en el 30-40% restante la causa es desconocida (infertilidad masculina idiopática o primaria).

1.1 El laboratorio clínico en fertilidad:

Los análisis de laboratorio constituyen la base sobre la que se asienta el estudio inicial de los pacientes que acuden a la consulta de reproducción asistida. Incluyen el perfil para conocer el estado serológico, el grupo sanguíneo y el cariotipo en ambos miembros de la pareja. En el caso de la mujer este perfil se amplía con el estudio de las hormonas en fase folicular: FSH, LH, y estradiol, además de otras hormonas, exploración tiroidea, vitaminas, bioquímica básica, hemograma y coagulación. (Puede verse la relación total de pruebas para perfil de infertilidad en la Tabla 1).

En el caso del varón, el laboratorio desempeña, además, una función determinante, realizando el estudio completo del semen o seminograma que tiene como objetivo principal evaluar la calidad seminal. Para ello se siguen los estándares establecidos por la Organización Mundial de la Salud en su manual *"WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen"*.

Este manual establece las características para considerar a un espermatozoide como normal, con morfología perfecta:

- Cabeza ovalada y región acrosómica bien definida en la parte apical (zona superior). No debe presentar más de 2 vacuolas.
- El cuello se debe insertar en la cabeza por la parte axial y no debe presentar engrosamientos.
- La cola debe ser recta, sin giros ni quiebras.

Los espermatozoides que se salgan de estos parámetros se considerarán como anormales. Si el porcentaje de espermatozoides normales es inferior al 4%, se habla de teratozoospermia.

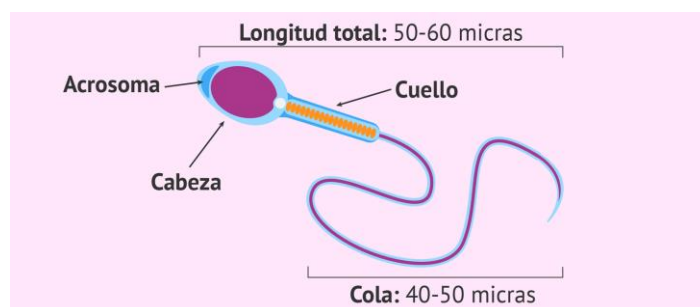


Figura 1. Morfología de un espermatozoide normal.
Tomado de Revista Médica Reproducción Asistida ORG.

Estudio en la Mujer
Gónadas - C. Suprarrenal
• FSH • LH • Estradiol • Testosterona • Cortisol • Prolactina • Antimülleriana
Bioquímica Básica
• Transaminasas (ALT y AST) y calcio
Exploración Tiroidea
• TSH • T4 libre • Anticuerpos anti-receptor TSH (TSI) • Anticuerpos anti-peroxidasa (anti TPO)
Otros parámetros bioquímicos
• Vitamina B12 • Vitamina D • Homocisteína
Hematimetría y Coagulación básicas
Estudio en el varón
Seminograma y estudio hormonal
Estudio en ambos miembros de la pareja
Serología
• Virus Hepatitis B - Antígeno HBs - Anti-HBc (Ac totales) • Virus Hepatitis C - Anticuerpos VHC • Retrovirus - VIH (Ac y Ag) • Sífilis - Ac Treponémicos
Banco de Sangre
• Grupo ABO • Grupo Rh (D) • Escrutinio de Anticuerpos irregulares
Cariotipo

Tabla 1. Perfil de Laboratorio para infertilidad en la pareja. Elaboración propia.

Entre las causas que provocan deformación en la morfología espermática se encuentran: las alteraciones genéticas, los tratamientos farmacológicos agresivos (quimio y radioterapia), infecciones seminales y orquitis, traumatismos testiculares, varicocele, periodos febriles recientes, diabetes mellitus o meningitis y hábitos de vida inadecuados como una mala alimentación, exposición a agentes tóxicos, abuso de tabaco, alcohol o drogas.

Algunos casos de teratozoospermia son reversibles, al desaparecer el periodo febril, la infección o los periodos de estrés. Del mismo modo, es posible recuperar parte de la buena morfología espermática siguiendo hábitos de vida saludables, cuidando la alimentación, o por intervención quirúrgica, como en el caso de varicocele, si se sospecha éste como causa primaria.

2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

2.1 Motivo de consulta:

Pareja que acude a la unidad de Reproducción Asistida de nuestro hospital por deseo genésico no cumplido tras 15 meses de relaciones sexuales sin métodos anticonceptivos.

Se realiza estudio completo de la pareja con analíticas para ambos. El hombre se deriva a urología para exámenes complementarios y evaluación de resultados de seminograma realizado en el laboratorio.

2.1.1 Estudio de la mujer:

- Anamnesis.

Mujer de 36 años, 157 cm de estatura e índice de masa corporal (IMC) de 25. No fumadora, no diabetes mellitus, no dislipemias ni hipertensión.

- Ecografía Basal.

Exploración ginecológica normal. Se observa útero con morfología normal y se realiza recuento de folículos antrales que correlaciona bien con la edad materna.

Parámetros	Resultados	IR
FSH	8.20 UI/L	FF: 3.5-12.5
LH	6.22 UI/L	FF: 2.4-12.6
Estradiol	64.40 pg/mL	FF:12.4-233
Testosterona	24 ng/dL	[8-48]
Cortisol	12 µg/dL	[6.00-18.00]
Prolactina	16.6 ng/mL	[4.8-23.3]
AMH	2.3 ng/mL	[0.71-7.59]
Calcio	9.5 mg/dL	[8.6-10.2]
AST (GOT)	25 U/L	[5-27]
ALT (GPT)	17 U/L	[5-34]
GGT	8 U/L	[5-36]
TSH	2.76 µUI/mL	[0.40-4.50]
T4 libre	1.11 ng/dL	[0.70-1.90]
Ac TSI	<0.8 IU/l	[0.00-1.75]
Anti TPO	7 UI/mL	[5-34]
Vitamina D	36.3 ng/mL	[20.0-40.0]
Vitamina B12	304.20	[197.00-771.00]
Homocisteína	12.0 µmol/L	[<= 14]

Tabla 2. Estudio hormonal y bioquímico en la mujer.
Elaboración propia.

- Resultados de Laboratorio (Tabla 2)

Los resultados para todas las pruebas serológicas fueron negativos.

Se realizó el estudio inmunohematológico en banco de sangre para conocer grupo sanguíneo y Rh: A positivo con escrutinio de Anticuerpos irregulares negativo.

Para el estudio del cariotipo se realizaron dos cultivos de leucocitos de sangre periférica de 72 horas en medio RPMI y se analizaron al microscopio 30 metafases con bandeó GTG. En todas ellas se observaron 46 cromosomas normales con fórmula sexual XX por lo que se concluye que la paciente presenta un cariotipo femenino normal.

- Pruebas complementarias.

Se realiza histerosalpingografía con contraste yodado hidrosoluble evidenciando útero de morfología normal sin defecto de repleción, comprobándose paso de contraste a ambas trompas y peritoneo, descartándose la obstrucción tubárica.

2.1.2 Estudio del hombre:

El paciente es derivado a urología para estudio completo

- Anamnesis.

Hombre de 40 años. Fumador desde los 14 y consumidor ocasional de alcohol. Trabajo no relacionado con exposición a tóxicos ambientales como plomo, benceno o pesticidas. No refiere enfermedades sistémicas ni genéticas familiares, pero sí haber tenido un episodio de parotiditis (paperas) en la niñez. No diabetes mellitus, dislipemias ni hipertensión. No toma medicamentos de forma crónica. No refiere episodios de fiebre ni estrés en los últimos meses.

- Exploración física.

Talla 172 cm con IMC 27.4. Ingles y abdomen depresibles no dolorosos a la palpación.

Parámetros	Resultados	IR
FSH	8.42 UI/L	[1.5-12.4]
LH	4.01 UI/L	[1.7-8.60]
Testosterona	410 ng/dL	[193-740]
Prolactina	9.3 ng/mL	[4.0-15.2]
TSH	2.89 µUI/mL	[0.40-4.50]

Tabla 3. Estudio hormonal en el varón. Elaboración propia.

Testículos derecho e izquierdo de tamaño simétrico, ambos sin demostrar lesiones focales salvo calcificación grosera intratesticular derecha. El paciente refiere dolor tras ejercicio físico intenso que se confirma a la palpación. Ante la sospecha de ligero varicocele, se solicita ecografía Doppler escrotal.

- Pruebas complementarias.

El informe radiológico por ecografía Doppler revela varicocele izquierdo grado 2 sobre 4 morfológico con dilataciones de las venas del plexo pampiniforme hasta 3 mm y reflujo venoso con la maniobra de Valsalva.

- Resultados de Laboratorio (Tabla 3).

Resultados negativos para todas las pruebas serológicas de hepatitis B, hepatitis C, VIH y sífilis.

Se realizó el estudio inmunohematológico en banco de sangre para conocer grupo sanguíneo y Rh: 0 positivo con escrutinio de Anticuerpos irregulares negativo.

Para el estudio del cariotipo se realizaron dos cultivos de leucocitos de sangre periférica de 72 horas en medio RPMI y se analizaron al microscopio 30 metafases con bandeo GTG. En todas ellas se observaron 46 cromosomas normales con fórmula sexual XY por lo que se concluye que el paciente presenta un cariotipo masculino normal.

- Seminograma.

Previo a la recogida de la muestra se le entrega al paciente una hoja con recomendaciones para la misma, haciendo hincapié en las medidas higiénicas, el tiempo de abstinencia sexual necesario (2-7 días), la recogida completa de la muestra y su entrega al laboratorio dentro de los 60 minutos posteriores a su obtención. Toda esta información se recoge en la entrevista que se le hace al paciente a la entrega de la muestra.

Los resultados obtenidos en el análisis se muestran, junto a los límites inferiores de referencia establecidos por la OMS, en la Tabla 4:

A la vista de los resultados observamos que las características iniciales de la muestra son aceptables, con una licuefacción completa dentro de los 60 minutos posteriores a la obtención de la muestra, la viscosidad no está aumentada ya que no se observó formación de filamentos de más de 2mm de longitud, el pH es normal y no existe hipospermia.

En cuanto al examen microscópico inicial, no se evidenciaba presencia de células, bacterias, aglomeraciones o aglutinaciones que hicieran sospechar infección o existencia de anticuerpos anti-espermatozoide en la muestra.

El paciente presentaba una buena movilidad espermática tanto para el porcentaje de espermatozoides progresivos como para el total de espermatozoides móviles (suma de progresivos y no progresivos) en la muestra. La vitalidad y la concentración cumplían con los intervalos de referencia establecidos por la OMS.

En el análisis de la morfología se observaban piezas intermedias bien insertadas, sin engrosamientos y colas bien definidas sin giros ni quiebras, sin embargo, aunque la cabeza no presentaba vacuolización excesiva, TODOS los

espermatozoides de la muestra presentaban la misma alteración morfológica: cabezas redondeadas en forma de globo y sin acrosoma.

Se comenta con urología, se evalúa posible mejora postquirúrgica y se propone al paciente intervención de varicocele por embolización (menos invasiva que la cirugía convencional). Además, se recomienda al paciente evitar exposición a tóxicos como tabaco y alcohol, y mejorar hábitos alimenticios con suplementación antioxidante.

Se realiza el segundo análisis de semen obteniendo resultados similares para todos los parámetros y con idénticos resultados para la morfología.

Con estos datos se diagnostica al paciente de teratozoospermia severa por un defecto en la morfología de las cabezas de los espermatozoides conocido como globozoospermia.

3. TRATAMIENTO Y EVOLUCIÓN

Se informa a la pareja de los resultados obtenidos en el seminograma en la consulta de urología y se comenta evaluación y tratamiento del caso en conjunto con la unidad de Reproducción Asistida para evaluación de distintas posibilidades y búsqueda de estrategia común.

Se cita a la pareja tras estudio en sesión y se informa de las distintas opciones disponibles.

Se decide intentar ciclo de tratamiento de reproducción asistida mediante estimulación e inyección intracitoplasmática (ICSI).

A la vista de los resultados de laboratorio de la mujer (AMH 2,3ng/mL) se comienza protocolo de estimulación ovárica con análogos de FSH recombinante a dosis medias. Se llevan a cabo analíticas seriadas de estradiol y progesterona en día 6, 8 y 10 de estimulación, así como controles ecográficos en los que crecen de manera favorable un número adecuado de folículos y se observa grosor endometrial adecuado. En día 11 de estimulación se pauta administración de análogo de LH para maduración ovocitaria y se programa punción folicular para día 13.

En la punción se obtuvieron 11 ovocitos de los cuales 10 estaban en estado adecuado de maduración (metafase II). Se llevó a cabo la técnica ICSI con muestra de semen de la pareja sin conseguir ningún embrión viable.

Ante estos resultados se comenta el caso en sesión de Reproducción Asistida y se conviene ofrecer como alternativa viable a la gestación propia, la donación de gametos masculinos. La pareja acepta y se somete a un segundo ciclo de tratamiento tras el cual se obtienen 4 embriones viables para transferencia, consiguiéndose embarazo con el segundo de ellos.

4. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

La teratozoospermia se considera una causa de infertilidad masculina asociada a factor espermático y su origen puede ser diverso y en muchas ocasiones desconocido.

Examen macroscópico		
Volumen	3.5ml	[>= 1.5mL]
Licuefacción	Completa	
Viscosidad	Normal	
Color	Normal	
pH	8.5	[>7.2]
Dilución	1:20	
Movilidad		
Progresivos	77%	[LIR 32%]
No progresivos	9%	
Inmóviles	14%	
Movilidad total	86%	[LIR 40%]
Vitalidad		
Vivos	94%	[LIR 58%]
Muertos	6%	
Concentración de espermatozoides		
Millones/mL	26.20	[LIR >= 15]
Millones/eyaculado	92.00	[LIR >= 39]
Morfología		
Normales	0%	[LIR 4%]
Anormales	100%	

Tabla 4. Resultados seminograma. Elaboración propia.

Estas alteraciones morfológicas pueden estar causadas por defectos en la cabeza, la pieza media y la cola, o por una combinación de todos ellos (Figura 2).

La globozoospermia se engloba dentro de las anomalías morfológicas que afectan a la cabeza. Estos espermatozoides presentan una forma parecida a la de un globo (de ahí su nomenclatura), además carecen de acrosoma por lo que son incapaces de penetrar en la zona pelúcida y fecundar el óvulo de manera natural, ni con técnicas de reproducción asistida como la inseminación artificial o FIV convencional. Solamente a través de la inyección intracitoplasmática, en la que el embriólogo introduce directamente el espermatozoide en el interior del óvulo con una microinyección, será posible la fecundación. Aun así, es poco probable conseguir un embarazo viable con globozoospermia, ya que estos espermatozoides, además de no presentar acrosoma, pueden tener alterada su carga genética.

Hasta el momento, no se ha encontrado una explicación clara de la patogenia de la globozoospermia.

Es probable que esté relacionada con daños en el ADN, una estructura de cromatina anormal y una mayor frecuencia de fragmentación del ADN espermático.

Algunas evidencias indican la posibilidad de que exista una prevalencia de globozoospermia mayor de lo habitual en ciertas familias, sugiriendo un origen genético, sin embargo, el patrón de herencia y los defectos específicos involucrados no se conocen bien por el momento.

Fenotípicamente este trastorno se puede clasificar en globozoospermia total o parcial (tipo I y tipo II) en función de si se ven afectados o no el total de espermatozoides en el eyaculado. Las posibilidades reproductivas de estos pacientes con morfología total alterada pasan por la introducción de mejoras en los tratamientos ICSI, entre las que se encuentra la activación artificial de ovocitos (AOA) a través de ionóforos de calcio.



Figura 2. Morfología espermática y defectos de cabeza. Tomado de Revista Médica Reproducción Asistida ORG.

En caso de no conseguir fecundación otra de las alternativas reproductivas es recurrir a donación de gametos masculinos.

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Diagnosis and hormonal treatment of male infertility. Zambrano Serrano CA, Carvajal Obando A. Actas Urol Esp (Engl Ed). 2020 Jun;44(5):321-327.
- Factores nutricionales y no nutricionales pueden afectar la fertilidad masculina mediante mecanismos epigenéticos. María Oliver Bonet 1, Núria Mach. Nutr. Hosp. vol.33 no.5 Madrid sep./oct. 2016
- WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. Fifth Edition.
- Clinical pregnancies and livebirths achieved by intracytoplasmic injection of round headed acrosomeless spermatozoa with and without oocyte activation in familial globozoospermia: case report. Dirican EK, Isik A, Vicdan K, Sozen E, Suludere Z. Asian J Androl. 2008 Mar;10(2):332-6
- Molecular cytogenetic and genetic aspects of globozoospermia: a review. Perrin A, Coat C, Nguyen MH, Talagas M, Morel F, Amice J, De Braekeleer M. Andrologia. 2013 Feb;45(1):1-9.
- Morphology of partial globozoospermia. Dam AH, Ramos L, Dijkman HB, Woestenenk R, Robben H, van den Hoven L, Kremer JA. J Androl. 2011 Mar-Apr;32(2):199-206.
- A birth from the transfer of a single vitrified-warmed blastocyst using intracytoplasmic sperm injection with calcium ionophore oocyte activation in a globozoospermic patient. Kyono K, Nakajo Y, Nishinaka C, Hattori H, Kyoya T, Ishikawa T, Abe H, Araki Y. Fertil Steril. 2009 Mar;91(3):931.e7-11.
- [The spermiological limits to ART]. Barrière P. J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris). 2005 Nov;34(7 Pt 2):5S34-5S37.
- Genética e infertilidad masculina. Dr. Ernesto Veiga Álvarez. Unidad de Reproducción Humana Asistida. Laboratorio Central. Hospital Clínico Universitario. Santiago de Compostela. Curso Reproducción Asistida SEQC 2021-2022.. Varicocele Embolization: Patient Selection: Preprocedure Workup, and Technical Considerations. Wadhwa V, Kashanian JA, Schiffman M, McClure TD. Semin Intervent Radiol. 2021 Jun;38(2):176-181.
- Association between total globozoospermia and sperm chromatin defects N Eskandari 1 2, M Tavalaei 1, D Zohrabi 2, M H Nasr-Esfahani 1 3 Affiliations expand. Andrology 2018 Mar;50(2).
- Globozoospermia syndrome: An update Farzaneh Fesahat, Ralf Henkel, Ashok Agarwal. Andrology 2020 Mar;52(2):e13459.

BLOQUE IV

HEMATOLOGÍA

9-LA CITOLOGÍA COMO PIEDRA ANGULAR EN EL DIAGNÓSTICO DE LOS SÍNDROMES MIELODISPLÁSICOS

Autores: Alberto Blanco Sánchez, Esther Parra Virto, Sandra Gómez Rojas

Servicio de Hematología y Hemoterapia, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Palabras clave: Anemia, síndrome mielodisplásico, Síndrome 5q-.

1. INTRODUCCIÓN

Las herramientas diagnósticas utilizadas en hematología incluyen un amplio abanico de pruebas de laboratorio, de entre las cuales la citología destaca por su rapidez y extendida disponibilidad. Se trata de una de las primeras técnicas diagnósticas desarrolladas en nuestro campo, empleada desde hace décadas. Sin embargo, a pesar del reciente desarrollo de métodos más sofisticados como la citometría de flujo o las técnicas de biología molecular, continúa siendo un pilar fundamental en el diagnóstico y clasificación de la mayoría de hemopatías malignas.

A través del desarrollo de este caso clínico aportaremos un particular ejemplo de la utilidad de la citología como primer escalón en el diagnóstico de los síndromes mielodisplásicos, grupo de neoplasias en las que esta prueba no ha podido ser desplazada por otras de mayor complejidad como las mencionadas previamente.

2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

2.1 Motivo de consulta:

Anemia en analítica de rutina.

2.2 Antecedentes personales:

Entre los antecedentes personales destacan:

- Hipertensión arterial esencial en tratamiento con un antagonista del receptor de angiotensina II.
- Dislipidemia en tratamiento con una estatina.
- Esófago de Barrett con metaplasia intestinal moderada sin displasia, en seguimiento por Medicina del Aparato Digestivo.
- Gastritis atrófica antral y superficial fúndica.
- Anemia ferropénica secundaria a pérdidas sanguíneas por miomas y hemorroides hace 5 años.
- Bocio multinodular eutiroides.
- Incidentaloma suprarrenal de 2 cm caracterizado como adenoma sin datos de secreción hormonal.
- Apendicectomía.
- Histerectomía y ooforectomía bilateral laparoscópica por miomas.
- Como tratamiento habitual: losartán 100mg en el desayuno, pantoprazol 40mg en el desayuno y la cena, simvastatina 10mg en la cena.

2.3 Enfermedad actual:

Paciente de 68 años derivada desde el servicio de medicina del aparato digestivo por anemia. A la anamnesis la paciente refiere exclusivamente astenia, sin otros síntomas de síndrome anémico (no cefalea, no disnea, no palpitaciones, no dolor torácico, no oliguria, no acúfenos, no alteraciones del ánimo). Como posibles desencadenantes, niega sangrados, refiere adecuada alimentación, niega hábitos tóxicos. No refiere coluria ni ictericia, tampoco síndrome constitucional. Hace años presentó anemia ferropénica secundaria a sangrados por miomas y hemorroides. Refiere que tras ser sometida a histerectomía no ha vuelto a presentar sangrados ginecológicos, ni tampoco sangrados digestivos. Niega antecedentes ocupacionales o familiares de interés.

2.4 Exploración física:

- Tensión arterial 122/83mmHg, frecuencia cardíaca 75 latidos por minuto, saturación de oxígeno 98%, temperatura 36,5°C.
- Hemodinámicamente estable y afebril, eupneico en reposo, buen estado general, normoperfundido, normohidratado y normocoloreado.
- Cabeza y cuello: no adenopatías, no lesiones orofaríngeas.
- Tórax: auscultación cardíaca rítmica sin soplos. Auscultación pulmonar con murmullo vesicular conservado sin ruidos sobreañadidos.
- Abdomen: ruidos hidroaéreos de calidad y en cantidad normales, blando y depresible, no doloroso a la palpación, no palpándose masas ni organomegalias.
- Extremidades: sin edemas ni datos de trombosis venosa.
- Piel y faneras: sin lesiones visibles.
- Neurológica: consciente y orientada, alerta, sin signos de focalidad neurológica.

3. INFORME DE LABORATORIO

En la analítica destaca anemia moderada (11,1 g/dL, hematocrito 33%, hematíes $2,97 \times 10^{12}/\mu\text{L}$), macrocítica (VCM 111.1 fL), hipercrómica (37,4 pg), arregenerativa (reticulocitos $54.900/\mu\text{L}$), con aumento del ancho de distribución eritrocitaria (RDW 15,7%), sin otras citopenias (leucocitos $4.200/\mu\text{L}$, neutrófilos $2.000/\mu\text{L}$, plaquetas $359.000/\mu\text{L}$). Los perfiles hepático y renal no muestran

alteraciones. Los tiempos de coagulación son normales. No presenta elevación de reactantes de fase aguda.

4. DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES

Las causas de anemia macrocítica son diversas. En primer lugar, se han de descartar las causas de pseudomacrocitosis¹:

- Agregados eritrocitarios, secundarios por ejemplo a la existencia de crioaglutininas o pilas de monedas por hipergammaglobulinemia.
- Muestra envejecida.
- Hiperleucocitosis.
- Hiperglucemia grave.
- Exceso de EDTA en la muestra.

Una vez confirmada la macrocitosis, se plantean las siguientes etiologías de la misma¹:

- Anemia megaloblástica (por déficit de vitamina B12, fólico o secundaria a fármacos).
- Síndrome mielodisplásico.
- Secundaria a fármacos.
- Hiperreticulocitosis.
- Hepatopatía crónica.
- Alcoholismo.
- Hipotiroidismo.
- Aplasia medular.
- Embarazo.
- Benigna familiar.
- Idiopáticas (pueden alcanzar hasta un 8%).

5. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

- Vitamina B12 319,2 pg/mL. Ácido fólico 10,5 ng/mL.
- Perfil tiroideo: TSH 1,19 µIU/ml, T4 1,27 ng/dL.
- Perfil férrico: Ferritina 217 ng/ml, Hierro 86 µg/dl, Transferrina 217 mg/dl, Saturación Transferrina 28.2%, TIBC 306 µg/dl.
- Colonoscopia: 2 pólipos de muy escaso tamaño en colon. Se efectúa poliopectomía de ambos. Diverticulosis. Hemorroides internas. No signos de sangrado.
- Gastroscoopia esófago de Barrett C0M1 de Praga. Gastritis atrófica antral con metaplasia intestinal
- Frotis de sangre periférica: anisopoiquilocitosis con algunos acantocitos, eliptocitos y fragmentocitos. No macroovalocitos. No alteraciones de la segmentación ni granulación de los neutrófilos. Conclusión: rasgos patológicos inespecíficos de la serie roja.

Dada la negatividad de las pruebas anteriores se plantea el estudio de médula ósea mediante aspirado, que arroja los siguientes resultados:

- Médula ósea normocelular para la edad de la paciente, con grasa conservada. Megacariocitos en proporción aumentada respecto a la celularidad, siendo un 72% de los mismos displásicos, con presencia de micromegacariocitos y megacariocitos de pequeño tamaño hipolobulados y monolobulados (Figura 1, A, B y C). Un 28% de los precursores eritroides muestran discretos rasgos displásicos en forma de déficit de hemoglobinización, macrocitosis y asincronismo madurativo. Se observan aislados puentes internucleares (Figura 1, D). No rasgos de disgranulopoyesis. Tinción de Perls sin sideroblastos en anillo.

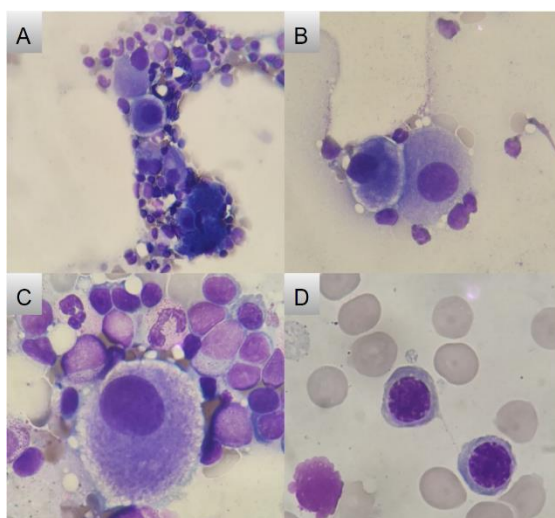


Figura 1. Microfotografías de aspirado de médula ósea. A imagen a 40 aumentos: megacariocitos aumentados en proporción a la celularidad, de pequeño tamaño y monolobulado. B y C imágenes a 100 aumentos: megacariocitos de pequeño tamaño monolobulados. D

Características	0 puntos	0,5 puntos	1 puntos	1,5 puntos	2 puntos	3 puntos	4 puntos
Grupo de riesgo citogenético	Muy bueno		Bueno		Intermedio	Pobre	Muy pobre
Blastos en MO %	0-2		3-4,9		5-10	>10	
Hemoglobina (g/dL)	≥10		8-9,9	<8			
Plaquetas (x10 ⁹)	≥100	50-99	<50				
PMN (x10 ⁹)	≥0,8	<0,8					

Grupo de riesgo: Muy bajo: 0-1,5 puntos. Bajo: >1,5-3 puntos. Intermedio: >3-4,5 puntos. Alto: >4,5-6 puntos. Muy alto: >6 puntos. Grupo de riesgo: Muy bajo: 0-1,5 puntos. Bajo: >1,5-3 puntos. Intermedio: >3-4,5 puntos. Alto: >4,5-6 puntos. Muy alto: >6 puntos.

Tabla 1. Índice pronóstico revisado para estratificación de pacientes con SMD. Adaptado de: Guías españolas SMD y LMMC 2020.

6. DIAGNÓSTICO

Síndrome mielodisplásico con displasia multilineal. Datos morfológicos sugerentes de síndrome 5q-.

7. EVOLUCIÓN

En la siguiente consulta se obtuvieron los resultados de citogenética y biología molecular, que confirmaron la delección del brazo largo del cromosoma 5.

Con todos los datos anteriores se pudo establecer un IPSS-R de 1, correspondiente a un riesgo muy bajo, siguiendo los criterios del International Working Group for the Prognosis of MDS, expuestos en la tabla 1. El IPSS-R constituye una versión revisada del IPSS, que tiene en cuenta el grado de las citopenias, y modifica el peso del resto de variables, permitiendo una mejor estratificación respecto al índice antiguo² (Tabla 1).

8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

Los síndromes mielodisplásicos (SMD) son un grupo de neoplasias mieloides caracterizadas por una alteración en la maduración de los precursores eritroides (diseritropoyesis), granulocíticos (disgranulopoyesis) y/o megacariocíticos (dismegacariopoyesis). Las mutaciones genéticas que dan origen a este grupo de enfermedades clonales se producen en una célula hematopoyética pluripotencial³.

Dichas alteraciones provocan una hematopoyesis ineficaz con aborto intramedular por apoptosis de los elementos hematopoyéticos durante su proceso de diferenciación, generando citopenias en sangre periférica (dato que contrasta con la hiperplasia medular). Además, presentan un riesgo variable de evolución a leucemia mieloide aguda (LMA), con peor pronóstico respecto a la que surgen de novo⁴.

Los SMD son una patología típica, aunque no única, de pacientes ancianos (con una mediana de edad de 70 años⁵). En España, se estima una incidencia de 4-5 casos por 100.000 habitantes y año, aunque puede alcanzar los 30-40 casos por 100.000 habitantes y año en personas de más de 60 años, según datos aportados por el Grupo Español de Síndromes Mielodisplásicos (GESMD)⁶.

Su causa, como la de la mayoría de neoplasias mieloides, es desconocida, identificándose factores de riesgo como la exposición previa a radiación o fármacos (cloranfenicol, análogos de trombopoyetina, quimioterápicos...) ⁵. En el 50% de los casos se identifica una alteración citogenética recurrente (entre ellas las más frecuentes las trisomías de los cromosomas 7 y 8) ³. Se han descrito numerosas mutaciones somáticas adquiridas en el 80-90% de los pacientes con SMD. Aproximadamente en el 70% de los casos, están implicados los genes de splicing y/o reguladores epigenéticos. Pocos genes están mutados con una frecuencia relativamente alta (SF3B1, TET2, SRSF2, DNMT3A y RUNX1 en >10% de los casos) sin existir un gen concreto en la mayoría de los pacientes, lo que dificulta el desarrollo de dianas farmacológicas efectivas⁷.

En lo que respecta a su presentación clínica, la causa más frecuente de consulta es la anemia (siendo las infecciones y la clínica hemorrágica más propias de los pacientes de alto riesgo)¹. En la mayoría de casos es macrocítica y tiende a ser más grave en los casos concretos de SMD con delección del 5q. En un porcentaje menor de casos la anemia se acompaña de neutropenia y/o plaquetopenia; y más infrecuentemente se manifiesta en forma de neutropenia o plaquetopenia aisladas^{2,3}.

Tras las determinaciones de laboratorio ya mencionadas, y en un contexto clínico sugestivo (pacientes ancianos, mala respuesta a tratamiento y habiendo descartado otras causas)

	Líneas displásicas	Citopenias	Sideroblastos en anillo	Blastos SP	Blastos MO	Bastones de Auer	Citogenética
SMD con displasia unilínea	1	1-2	<15%/<5% ^b	<1%	<5%	No	Cualquiera salvo criterios de Sde 5q-
SMD con displasia multilínea	2-3	1-3	<15%/<5% ^b	<1%	<5%	No	Cualquiera salvo criterios de Sde 5q-
SMD con sideroblastos en anillo (SMD-SA)							
SMD-SA-DU	1	1-2	≥15%/≥5% ^a	<1%	<5%	No	Cualquiera salvo criterios de Sde 5q-
SMD-SA-DM	2-3	1-3	≥15%/≥5% ^a	<1%	<5%	No	
SMD con delección de 5q	1-3	1-2	Ninguno o alguno	<1%	<5%	No	Del (5q-) solo o con 1 anomalía adicional excepto -7 o del(7q)
SMD con exceso de blastos (SMD-EB)							
SMD-EB1	1-3	1-3	Ninguno o alguno	2-4%	5-9%	No	Cualquiera
SMD-EB2	1-3	1-3	Ninguno o alguno	5-19%	10-19%	Sí/No	
SMD inclasificable							
Con 1% de blastos en s.p.	1-3	1-3	Ninguno o alguno	1%	<5%	No	Cualquiera
Con displasia unilínea y pancitopenia	1	3	Ninguno o alguno	<1%	<5%	No	Cualquiera
Basado en alteraciones citogenéticas	0	1-3	<15%	<1%	<5%	No	Anomalía citogenética definitoria de SMD ^b

^aSi hay mutación de SF3B1.

^bAnomalías citogenéticas definitorias: -7/del(7q), t(11;16)(q23;p13.3), -5/del(5q), t(3;21)(q26.2;q22.1), i(17q)/t(17p), t(1;3)(p36.3;q21.1), -13/del(13q), t(2;11)(p21;q23), del(11q), inv(3)(q21;q26.2), del(12p)/t(12p), t(6;9)(p23;q34), del(9q), idic(X)(q23), cariotipo complejo (3 o más alteraciones que incluyan 1 o más de las anteriores).

Tabla 2. Clasificación de SMD según OMS 2017. Adaptado de: Guías españolas SMD y LMMC 2020.

resulta esencial la realización de un frotis de sangre periférica que, en caso de mostrar rasgos de mielodisplasia, refuerza la sospecha clínica de SMD. Es muy importante conocer los antecedentes del paciente, dado que los rasgos displásicos no son patognomónicos de esta enfermedad, y el siguiente estudio a plantear sería la realización de un aspirado de médula ósea⁸. Numerosos factores pueden provocar mielodisplasia sin que esta signifique la existencia de un trastorno clonal subyacente. Así, la exposición a numerosos fármacos se asocia a rasgos de disgranulopoyesis (factores de crecimiento, inmunosupresores), infecciones como CMV, virus hepatotropos... y en ocasiones asienta sobre un sustrato de autoinmunidad o de patología hematológica crónica previa⁶.

Como se ha mencionado, el gold standard y prueba necesaria para el diagnóstico de un SMD consiste en un aspirado de médula ósea (que puede acompañarse de una biopsia de la misma en caso de que la calidad de la muestra comprometa su estudio, como en el caso de los síndromes mielodisplásicos con fibrosis asociada⁹). El criterio diagnóstico clásico ha consistido en el hallazgo de un 10% o más de elementos displásicos en una o más líneas hematopoyéticas de estirpe mieloide acompañando a una o más citopenias, si bien la última clasificación de la OMS admite un subgrupo que puede ser diagnosticado tan solo con la identificación de una mutación somática de significado patológico¹⁰.

La clasificación de los SMD se basa en el número de citopenias, el número de líneas mieloides que manifiestan rasgos displásicos, la proporción de sideroblastos en anillo, así como el porcentaje de blastos en médula ósea y sangre periférica⁵. Esta ordenación ha sufrido varias transformaciones hasta la empleada actualmente y publicada por la OMS en 2016 (Tabla 2).

enfermedad es hacia una insuficiencia medular progresiva con dependencia transfusional. Por último, en los casos de buen pronóstico la enfermedad evoluciona de forma indolente, alcanzando altas tasas de supervivencia entre los pacientes⁸.

El síndrome 5q- constituye el único grupo de la clasificación basado en la existencia de una alteración citogenética recurrente⁵. La inclusión de esta entidad por parte de la OMS se basó en la existencia de un número significativo de pacientes (entre el 10 y el 15% de casos de SMD, la mitad de ellos como única alteración del cariotipo¹¹) que presentaban en el estudio de cariotipo una delección del brazo corto del cromosoma 5, y con una serie de rasgos clínicos en común: predominio del sexo femenino (70%)⁸, generalmente se presentan con anemia, en caso de neutropenia esta no suele ser muy acusada, y muestran a menudo cifras elevadas de plaquetas en sangre⁹. Por otro lado, los pacientes muestran altas tasas de supervivencia y bajo porcentaje de evolución a LMA⁶.

Su diagnóstico exige el hallazgo de una o más citopenias, el hallazgo de un 10% o más de elementos displásicos de una o varias líneas mieloides, menos de un 5% de blastos en médula ósea (y menos del 1% en sangre periférica) y demostración de la delección de 5q. Se admite el hallazgo de otra alteración citogenética adicional salvo la delección de 7q^{3,12}.

A nivel molecular, la delección de 5q conduce a una alteración en la expresión de genes que requieren de la integridad de sus dos alelos para su correcta función (haploinsuficiencia)¹⁴. La haploinsuficiencia de uno de esos genes, CSNK1A1, que codifica para la proteína casein kinase 1A1, produce una ventaja proliferativa que lleva a la expansión clonal de la célula madre hematopoyética afectada³. La pérdida de uno de los alelos del gen RPS14, que codifica para una proteína ribosomal, conduce a un aumento de expresión de p53 en los eritroblastos que explica la tasa aumentada de apoptosis en este tipo de precursores responsable de la anemia. Por último, la haploinsuficiencia de los genes miR145 y miR146a conlleva una ventaja proliferativa de los precursores megacariocíticos (responsable de la trombocitosis) así como de la alteración en la maduración de estos¹³.

El tratamiento de los SMD se basa en la terapia de soporte en los casos de bajo riesgo (mediante administración de factores estimulantes de colonias y transfusiones), reservándose tratamientos más agresivos (quimioterapia y trasplante de progenitores hematopoyéticos) para los casos de alto riesgo. El síndrome 5q- cuenta con una terapia específica, la lenalidomida. Este fármaco se trata de un inmunomodulador con efectos sobre la actividad de linfocitos T y la angiogénesis. En el caso de este tipo de SMD ha demostrado disminuir los requerimientos transfusionales e incluso inducir una remisión citogenética, si bien presenta

Esta clasificación tiene importantes implicaciones pronósticas, ya que la historia natural del SMD conlleva en muchos casos la evolución a LMA, siendo mayor el riesgo en aquellos subtipos con exceso de blastos en médula ósea y/o sangre periférica. En otros muchos casos la evolución de la

respuestas temporales, se ha asociado a aumento de supervivencia global en determinadas series de pacientes^{15,16}.

En conclusión, los síndromes mielodisplásicos debutan habitualmente en forma de anemia macrocítica, si bien su curso puede ser muy variable. Su diagnóstico sigue un proceso ordenado que pasa por excluir causas secundarias de anemia macrocítica (fundamentalmente carenciales), el reconocimiento de rasgos displásicos en el frotis de sangre periférica, y si no se consigue demostrar una causa alternativa, la realización de un aspirado de médula ósea. La citología continúa siendo una de las herramientas fundamentales en la caracterización de este grupo de neoplasias, cuya clasificación sigue criterios eminentemente citomorfológicos. No obstante, las últimas clasificaciones reconocen la existencia de subgrupos caracterizados por determinadas alteraciones citogenéticas. El hallazgo de micromegacariocitos y megacariocitos hipolobulados constituyen un diagnóstico presuntivo de síndrome 5q-, una entidad de especial interés por su buen pronóstico y tratamiento específico.

BIBLIOGRAFIA ESPECÍFICA

1. Sanz MA, Carreras E. Manual práctico de Hematología clínica. 6ª ed. Barcelona: Antares; 2019.
2. San Miguel JF, Sánchez-Guijo F. Hematología. Manual básico razonado. 5a ed. Barcelona: Elsevier; 2020.
3. Cazzola M. Myelodysplastic Syndromes. N Engl J Med. 2020 Oct 1;383(14):1358-1374.
4. Pedersen-Bjergaard J, Andersen MK, Andersen MT, Christiansen DH. Genetics of therapy-related myelodysplasia and acute myeloid leukemia. Leukemia. 2008 Feb;22(2):240-8.
5. Swerdlow, S. H. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2017
6. GESMD. Guías españolas SMD y LMMC 2020 [Internet]. Barcelona: GESMD; 2020 [consultado el 5 de enero de 2022]. 58 p. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/345764354>
7. Lindsley RC. Mutational complexity in myelodysplasia. Best Pract Res Clin Haematol. 2017 Dec;30(4):290-294.
8. Hoffman R, Benz EJ, Silberstein LE et al. Hematology: Basic Principles and Practice. 6ªed. Filadelfia: Elsevier; 2013

9. Woessner S, Florensa L. La citología óptica en el diagnóstico hematológico. 5ª ed. Barcelona: Fundación española de Hematología y Hemoterapia; 2006
10. Hasserjian RP. Myelodysplastic Syndrome Updated. Pathobiology. 2019;86(1):7-13
11. Haase D, Germing U, Schanz J, Pfeilstocker M, Nosslinger T, Hildebrandt B, et al. New insights into the prognostic impact of the karyotype in MDS and correlation with subtypes: evidence from a core dataset of 2124 patients. Blood (2007) 110(13):4385–95
12. Montalban-Bravo G, Garcia-Manero G. Myelodysplastic syndromes: 2018 update on diagnosis, risk-stratification and management. Am J Hematol 2018;93:129-47.
13. Starczynowski DT, Kuchenbauer F, Argiropoulos B, Sung S, Morin R, Muranyi A, Hirst M, Hogge D, Marra M, Wells RA, Buckstein R, Lam W, Humphries RK, Karsan A. Identification of miR-145 and miR-146a as mediators of the 5q- syndrome phenotype. Nat Med. 2010 Jan;16(1):49-58
14. Johnson AF, Nguyen HT, Veitia RA. Causes and effects of haploinsufficiency. Biol Rev Camb Philos Soc. 2019 Oct;94(5):1774-1785
15. List A, Dewald G, Bennett J, et al. Lenalidomide in the myelodysplastic syndrome with chromosome 5q deletion. N Engl J Med. 2006;355:1456-1456
16. Azevedo RS, Belli C, Bassolli L, Ferri L, Perusini MA, Enrico A, Pereira T, Junior W, Buccheri V, Pinheiro RF, Magalhaes SM, Schuster S, Castelli JB, Traina F, Rocha V, Velloso E. Age, Blasts, Performance Status and Lenalidomide Therapy Influence the Outcome of Myelodysplastic Syndrome With Isolated Del(5q): A Study of 58 South American Patients. Clin Lymphoma Myeloma Leuk. 2021 Jul 25:S2152-2650(21)00308-6

10-LA ANOMALÍA DE PELGER-HUËT EN EL LABORATORIO DE HEMATOLOGÍA: A PROPÓSITO DE UN CASO

Autores: Rodrigo Gil Manso, Gonzalo Carreño Gómez-Tarragona

Servicio de Hematología, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Palabras clave: Anomalía de Pelger-Huët, Displasia, Anomalía pelgeroide

1. INTRODUCCIÓN

La denominada anomalía pelgeroide o pseudoPelger (ASP) es un hallazgo relevante a tener en cuenta entre todos aquellos profesionales encargados de interpretar extensiones de sangre periférica. La presencia de hiposegmentación nuclear generalizada en la serie granulocítica (dos segmentos nucleares en los neutrófilos en vez de tres o cuatro) puede ser un dato de alarma ya que ésta correlaciona con la presencia de infecciones, procesos de estrés para la médula ósea, toma de determinados fármacos y de forma muy relevante, neoplasias oncohematológicas.

Mucho menos frecuente (1/6000 personas aproximadamente) y por tanto muchas veces no sospechada es la anomalía de Pelger-Huët (APH). Descrita por Pelger en 1928 y 4 años más tarde por Huët en una sobrina del caso índice de Pelger, la APH se corresponde con una marcada hiposegmentación de los núcleos de los neutrófilos de carácter hereditario (autosómico dominante) y benigno, sin asociarse a ningún tipo de clínica infecciosa ni a una mayor predisposición a malignidad. A continuación, mostramos un caso de sospecha de APH acontecido en nuestro hospital y el proceso diagnóstico posterior.

2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

2.1 Motivo de consulta:

Sospecha de anemia en relación a sangrado uterino, descartar otras posibles causas de anemia.

2.2 Antecedentes personales:

Mujer de 40 años, natural de Rumanía, hábito tabáquico y enolismo activos. En estudio por parte del servicio de Ginecología por miomas uterinos con frecuentes episodios

de anemización por sangrado, pendiente de intervención quirúrgica.

2.3 Antecedentes familiares:

Padres fallecidos de eventos isquémicos en Rumanía. Hermana 2 años mayor en tratamiento quimioterápico activo por cáncer de mama.

2.4 Enfermedad actual:

Paciente ingresada en el hospital por un episodio de anemización en relación con los miomas descritos previamente.

2.5 Exploración física:

No refiere otra sintomatología más allá de aquella relacionada con el síndrome anémico. La exploración física es anodina, sin detectarse adenopatías, organomegalias ni otros signos sugestivos de malignidad.

3. INFORME DEL LABORATORIO

Dentro del estudio de extensión de la anemia, con el siguiente hemograma: hemoglobina 10,8 g/dL [13-16,8 g/dL], Volumen Corpuscular Medio (VCM) 76 fL [82,5-97,9 fL], plaquetas 497 x1000/ μ L [140-450 x1000/ μ L], leucocitos 4,4 x1000/ μ L [4-11,3 x1000/ μ L], neutrófilos 1,8 x1000/ μ L [1,8-7,4 x1000/ μ L], linfocitos 2,1 x1000/ μ L [1,2-4 x1000/ μ L], monocitos 0,4 x1000/ μ L [0,3-0,9 x1000/ μ L], se solicita una extensión de sangre periférica, que presenta los hallazgos que se comentan a continuación.

El frotis sanguíneo presenta una serie roja con anisocitosis y ligera hipocromía, sin otras alteraciones relevantes y que podrían estar en relación a ferropenia tras hemorragias frecuentes. La serie plaquetar presenta adecuado tamaño y granulación y la serie granulocítica destaca por asociar una

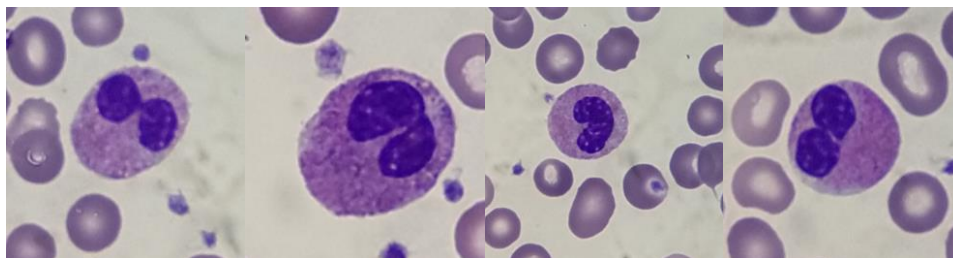


Figura 1. Neutrófilos con anomalía de Pelger-Huët en el caso de nuestra paciente. A destacar la adecuada granulación y la alta condensación cromatínica. Elaboración

marcada hiposegmentación nuclear, presentando todos los neutrófilos una cromatina madura, muy condensada y con dos segmentos nucleares en vez de los tres o cuatro habituales (Figura 1). La granulación de todas estas células es adecuada y no presentan otras alteraciones, tampoco se detectan formas inmaduras que pudieran sugerir desviación izquierda (blastos, metamielocitos, cayados, etc.).

4. DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES

La detección de una hiposegmentación nuclear en la serie granulocítica es un dato de alarma en el laboratorio de hematología ya que en la práctica habitual se asocia a procesos infecciosos o sistémicos graves, toma de fármacos que interaccionan con la formación de precursores hematopoyéticos y a procesos oncohematológicos (síndromes mielodisplásicos, leucemias agudas, etc.) (Tabla 1). La paciente no estaba recibiendo ningún tratamiento y no presentaba datos sugerentes de infección u otro proceso subyacente por lo que dentro del diagnóstico diferencial debía incluirse una entidad rara como la APH, que para muchos profesionales solo está descrita en los libros de Citología. Por tanto, en este caso el diagnóstico diferencial se basaba fundamentalmente en distinguir entre la presencia de rasgos de displasia o una verdadera APH.

La APH se caracteriza por la presencia de núcleos hiposegmentados, generalmente en forma de dos segmentos nucleares de cromatina muy condensada uniformemente, unidos por un fino puente intercromatínico, sin asociar otros posibles datos de displasia y afectando a la práctica totalidad de los neutrófilos.

Por el contrario, la detección de la ASP (Figura 2) en contexto de displasia generalmente se acompaña de otros rasgos nucleares o citoplásmicos en la serie granulocítica: la condensación cromatínica puede ser anómala en forma de grumos o "clumping", la segmentación es mucho más polimorfa o "aberrante", en el citoplasma pueden aparecer hipogranulación o vacuolización y pueden observarse macrocitosis o presencia de formas inmaduras. Además, pueden presentarse rasgos displásicos en las otras líneas celulares (por ejemplo, anisopoiquilocitosis o punteado anómalo en la serie roja o anisotrombía y anomalías de la granulación plaquetar en la serie plaquetar).

En este caso, por tanto, todo apuntaba a una verdadera APH, si bien se antojaba preciso llegar a un diagnóstico definitivo para descartar completamente que no se tratara de un proceso oncohematológico subyacente, lo cual requeriría de

la realización de un aspirado con biopsia de médula ósea, prueba invasiva, molesta y no exenta de complicaciones.

La APH es un rasgo de carácter hereditario debido a una mutación en el gen del receptor de la lámina B (LBR) situado en el cromosoma 1 y el cual juega un papel fundamental en la conformación del núcleo celular. Su herencia es de tipo autosómico dominante.

Debido a este patrón de herencia se optó por realizar una técnica sencilla pero que potencialmente podría otorgar el diagnóstico: se procedió a realizar una extensión de sangre periférica de la muestra sanguínea de su hermana, pues si se trataba de una verdadera APH existía un 50% de probabilidades de que también portara la mutación y por tanto la anomalía. Sin embargo, todos los neutrófilos de la hermana presentaban una adecuada segmentación nuclear, lo cual no permitía llegar al diagnóstico por esta vía. Tampoco presentaba otros familiares accesibles para ser evaluados pues se encontraban todos ellos en Rumanía.

Tras comentar el caso con el Servicio de Genética, se ofreció la posibilidad de realizar un estudio de secuenciación masiva del genoma, centrando el estudio en el gen *LBR* (Figura 3) localizado en el cromosoma 1.

En este estudio se detectó la variante c.520G>T (p.Glu174*) en el gen *LBR* (gen del receptor de lámina B). Esta variante genera un codón de terminación prematuro implicando una síntesis truncada y por tanto anómala de la proteína. Esta variante se detectó en el 43,3% del DNA estudiado, compatible con su presencia en heterocigosis. Se clasificó como variante probablemente patogénica ya que no se encontraba descrita previamente en bases de datos poblacionales y las herramientas *in silico* la clasifican como tal.

5. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Con estos resultados pudo llegarse al diagnóstico definitivo de APH, descartando de forma definitiva la presencia de displasia medular mediante una técnica no invasiva y evitando así también posibles estudios a otros parientes de nuestra paciente, todos ellos potenciales portadores de la anomalía. La integración de la información clínica obtenida de forma rigurosa, los hallazgos de la citología óptica y los estudios genéticos dirigidos permitieron no solo llegar al diagnóstico sino contribuir al conocimiento científico al descubrir una nueva mutación responsable de este rasgo hereditario.

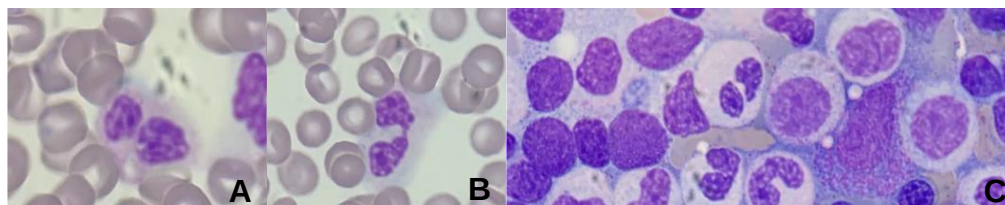


Figura 2. Anomalía de PseudoPelger en el caso de un paciente con síndrome mielodisplásico. Sangre periférica (A y B) y médula ósea (C), destaca la hipogranulación y el "clumping" cromatínico. Elaboración propia.

Congénita	Anomalia de Pelger Huët (AD)
Adquirida	1. Infecciosa: VIH, tuberculosis, infecciones bacterianas graves, etc. 2. Neoplásica: síndrome mielodisplásico, leucemias agudas. 3. Fármacos: micofenolato de mofetilo, ácido valproico, ganciclovir, paclitaxel, docetaxel.

Tabla 1. Diagnóstico diferencial de la anomalía de Pelger- Huët. Adaptada de Cunningham JM, 2009.

6. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

El receptor de lámina B es una proteína fundamental en la organización nuclear pero también presenta otras funciones importantes. Se trata de una proteína con dos dominios diferenciados, un dominio intranuclear, que es el responsable de la organización y estructura nuclear y un dominio transmembrana, implicado en la síntesis de colesterol y el desarrollo embrionario.

Las variantes patogénicas en heterocigosis conducen a una síntesis reducida de esta proteína, alterando la organización nuclear, su segmentación y la condensación cromatínica sin asociar sin embargo ningún tipo de clínica (se ha relacionado en ocasiones con un ligero aumento del riesgo infeccioso que no se ha corroborado en todos los estudios) ni aumento del riesgo de desarrollar cáncer.

Diferente es la situación en la que se hereda esta variante en homocigosis. En los escasos casos descritos se ha asociado a alteraciones del neurodesarrollo, anomalías cardíacas y de la síntesis ósea, así como con el síndrome de displasia esquelética de Greenberg. Se cree que este fenotipo tan grave es debido a la abolición de la función de la proteína en la síntesis de colesterol, fundamental para el correcto desarrollo celular.

De cara a la práctica clínica, como ya hemos mencionado, será fundamental distinguir la anomalía de las formas pelgeroides, siendo necesario integrar los hallazgos con el resto de alteraciones morfológicas, la clínica del paciente y la toma de fármacos (particularmente los inmunosupresores).

Una vez se llega al diagnóstico de una verdadera APH será fundamental informar al paciente respecto a la benignidad de los hallazgos y la importancia de que esta información sea

transmitida a sus parientes de cara a evitar potencial iatrogenia.

En conclusión, exponemos un caso de una anomalía de la morfología de los neutrófilos infrecuente pero paradigmática y que forma parte de los signos clásicos de la citología óptica. Es fundamental distinguirla de las causas secundarias de hiposegmentación nuclear, mucho más frecuentes. Además, en aquellos casos dudosos o donde sea necesario llegar al diagnóstico de certeza para descartar de forma definitiva la presencia de displasia, las novedosas técnicas de estudio de genoma se muestran rápidas, poco invasivas y eficientes.

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Cunningham JM, Patnaik MM, Hammerschmidt DE, Vercellotti GM. Historical perspective and clinical implications of the Pelger-Huët cell. *Am J Hematol.* febrero de 2009;84(2):116-9.
- Shah SS, Parikh RS, Vaswani LP, Divkar R. Familial Pelger–Huët Anomaly. *Indian J Hematol Blood Transfus.* 2016;32(S1):347-50.
- Nikolakaki E, Mylonis I, Giannakouros T. Lamin B Receptor: Interplay between Structure, Function and Localization. *Cells.* 2017;6(3):28.
- Speeckaert MM, Verhelst C, Koch A, Speeckaert R, Lacquet F. Pelger-Huët Anomaly: A Critical Review of the Literature. *Acta Haematol.* 2009;121(4):202-6.
- Mitsuhashi K, Hatanaka S, Hoshino S. A family with congenital Pelger–Huët anomaly. *Int J Hematol.* 2019;109(6):631-2.

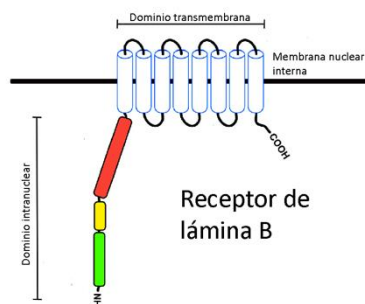


Figura 3. Estructura básica de la proteína LBR. Adaptada de: Nikolakaki E, 2017

11-EL ANTÍGENO RHD Y SU TIPIFICACIÓN SEROLÓGICA

Autores: Rodrigo Íñiguez García, Irene García García

Servicio de Hematología y Hemoterapia, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid.

Palabras clave: Antígeno RhD, Rh parcial, Rh débil.

1. INTRODUCCIÓN

Según la *International Society of Blood Transfusion (ISBT)* un sistema de grupo sanguíneo agrupa a todos los antígenos de superficie eritrocitaria controlados en un solo locus de genes o por dos o más genes homólogos con poca o ninguna recombinación observable entre ellos¹. Existen 38 sistemas de grupo sanguíneo, más algunos antígenos diferenciados que aún no han sido atribuidos a ningún sistema específico.

Los estudios pretransfusionales, o tradicionalmente llamados pruebas cruzadas, denominan a la batería de procedimientos rutinarios que se deben realizar previamente a una transfusión no extremadamente urgente. Se debe determinar el grupo sanguíneo ABO (tanto el grupo hemático de sus hematíes como el sérico de su plasma) así como el antígeno RhD (grupo hemático) usando reactivos comerciales que aglutinan los hematíes si son específicos para dichos antígenos. Además, se debe realizar el escrutinio de anticuerpos irregulares antieritrocitarios o prueba de Coombs indirecta, que enfrenta el plasma del paciente que va a ser transfundido con hematíes comerciales cuyos antígenos son conocidos. Si esta segunda determinación es negativa se eligen concentrados de hematíes ABO y RhD compatibles con el paciente y se distribuyen².

El antígeno D es el más inmunogénico y el de mayor importancia clínica dentro del sistema Rh, tanto en el contexto transfusional como durante la gestación. La tipificación del antígeno RhD en los individuos que van a ser transfundidos es una práctica universal en todos los bancos de sangre. La importancia de una correcta tipificación radica en el riesgo de aloinmunización si la transfusión es RhD incompatible (de sangre RhD+ a un individuo RhD-), con consecuencias potencialmente mortales. La amplia variabilidad en la expresión del antígeno RhD (variantes RhD) puede suponer discrepancias en el fenotipaje de un individuo, dificultades en las pruebas cruzadas y comprometer la seguridad transfusional.³

2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

Mujer de 55 años sin antecedentes personales o familiares de interés que ingresa para histerectomía programada por patología tumoral endometrial. Es exfumadora y no tiene otras enfermedades activas. Toma tratamiento para el dolor ocasional y nunca ha sido transfundida. Su problema actual son los sangrados constantes, que han requerido de consulta en Urgencias varias veces, así como tratamiento antifibrinolítico en más de una ocasión. Además de extraer un hemograma y una bioquímica renal, se solicitan pruebas cruzadas el día anterior a la cirugía para disponer de sangre

compatible, en previsión de necesidad transfusional intraoperatoria.

3. INFORME DEL LABORATORIO

En la analítica destaca anemia de 8,1 g/dl, normocítica normocrómica y el recuento de plaquetas es normal, así como la bioquímica renal. El estudio de coagulación es normal. Se solicitan 3 concentrados de hematíes (CH). Además de los reactivos anti-A, anti-B y anti-AB para determinar el grupo sérico ABO del paciente. El grupo RhD en nuestro Banco de Sangre se determina por duplicado gracias al uso de dos reactivos anti-D diferentes: el anti-D VI+, que reacciona contra todos los epítomos D, y el anti-D VI-, que no reconoce la variante DVI. A modo de ejemplo ilustrativo se muestra en la figura 1 un grupo hemático A, ya que los hematíes aglutinan con el reactivo anti-A y anti-AB, pero no con el anti-B. Seguidamente, en la parte superior se objetiva un grupo Rh D positivo, que aglutina con ambos reactivos anti-D. Sin embargo, en la parte inferior se trata de un individuo RhD negativo, ya que no existe aglutinación con los dos reactivos anti-D.

Sin embargo, la determinación de grupo hemático de nuestra paciente se objetiva en la figura 2. No hay dudas de que es grupo AB, pero existen discrepancias entre el pocillo Anti-D VI+ (aglutinación intensa) y el pocillo Anti-D VI- (nula aglutinación). ¿La paciente es RhD positiva y le podemos dar sangre RhD positiva o debemos interpretarlo como un resultado negativo siendo necesaria la transfusión de RhD negativa?

4. DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES

Siempre ante cualquier discrepancia en banco de sangre se debe solicitar nueva muestra y repetir el estudio nuevamente para confirmar los resultados por duplicado. En nuestro caso se obtuvo el mismo resultado nuevamente. Ante la discrepancia en el grupo hemático RhD, se debe sospechar la presencia de una variante RhD, es decir, una alteración mutacional congénita en la secuencia génica codificante de las proteínas RhD y RhCE, que conlleva un déficit cuantitativo o cualitativo en la expresión del antígeno RhD y sus epítomos, condicionando diferente riesgo de aloinmunización:

- Variante RhD débil: déficit cuantitativo. No se inmunizan.
- Variante RhD parcial: déficit cualitativo. Se inmunizan.
- Variante DEL: déficit cuantitativo. No se suelen inmunizar.

5. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS



Figura 1. Determinación de grupo sanguíneo en tarjeta. Parte superior: Grupo sanguíneo A+. Parte inferior: Grupo sanguíneo A-.

Se solicitó estudio genético de los hematíes mediante secuenciación del gen RHD que fue realizado en el Centro de Transfusión de la Comunidad de Madrid (CTCAM), con una duración media de 5 días.

El día previo a la cirugía, la paciente empieza a sangrar de forma abundante por la noche, anemizándose hasta 6.2 g/dl y se solicita transfusión urgente de 2 CH. Ante la discrepancia RhD mencionada se decide transfundir sangre RhD negativa hasta tener los resultados del estudio genético.

6. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO Y EVOLUCIÓN

Desde el CTCAM se reporta una hibridación intergénica con interposición de los exones 4 y 5 del gen RHCE en la estructura génica del gen RHD, confirmando una variante D parcial llamada DVI tipo 1. La paciente superó con éxito la cirugía y se controlaron las hemorragias. Finalmente se transfundieron 2 CH urgentes en la noche del sangrado agudo y otros 2 CH durante la cirugía al día siguiente. No se han objetivado datos de hemólisis o de aloinmunización en los estudios analíticos y pretransfusionales realizados con posterioridad.

7. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

7.1. Sistema Rh

El sistema Rh es el segundo sistema de grupo sanguíneo en importancia clínica, después del ABO. Este sistema es uno de los más polimórficos y complejos de los sistemas eritrocitarios, incluyendo más de 50 antígenos diferentes, siendo los más importantes los antígenos RhD, c/C y e/E. Estos se localizan y agrupan en dos proteínas de membrana eritrocitaria: la proteína RhD y la proteína RhCE. Estas proteínas se componen de 417 aminoácidos, son altamente homólogas entre sí (92%) y solamente difieren en un total de

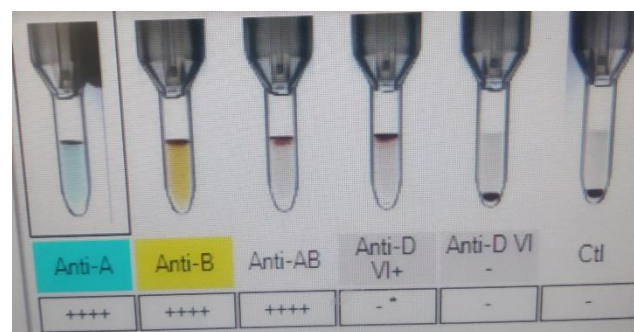


Figura 2. Determinación del grupo hemático de nuestra paciente.

32 a 35 residuos, que son precisamente los implicados en la gran variedad de epítomos en el sistema Rh. Están formadas por 12 dominios transmembrana que conforman 6 loops extracelulares y albergan el antígeno RhD y los antígenos c/C y e/E³.

Las proteínas RhCE y RhD están codificadas por los genes RHD y RHCE, adyacentes en el cromosoma 1p34-36. El gen RHD deriva de la duplicación del gen RHCE en homínidos del continente europeo y codifica para la proteína RhD; el gen RHCE tiene 4 alelos y codifica para las proteínas RhCE, RhCe, RhcE, Rhce. Existen posiciones aminoácidas muy relevantes en la conformación del antígeno y en el reconocimiento de éste por parte de anticuerpos. La Figura 3 representa mediante cajas azules el principio y el final de los dominios proteicos, codificados por los diferentes exones. Las ocho esferas amarillas y las 24 negras en la proteína RhD simbolizan epítomos extramembrana o transmembrana/citoplasmáticos, respectivamente. En la proteína RhCE, la posición 103 es fundamental para la expresión del fenotipo C si es una serina, o fenotipo c si es una prolina. Asimismo, en la posición 226 la alanina o la prolina se asocian con el fenotipo e o E, respectivamente¹. Las dos nomenclaturas que se siguen empleando para determinar el sistema Rh son la Fisher/Race y la Wiener (figura 4).

El antígeno D está formado por más de treinta epítomos diferentes. Únicamente las ocho posiciones de los loops extracelulares 3, 4 y 6 definen el grado de expresión de los epítomos específicos del antígeno D. El resto de epítomos definen la conformación tridimensional, y las mutaciones en estos aminoácidos, aunque solamente afecten a un dominio transmembrana, pueden causar cambios conformacionales que afecten indirectamente a la expresión de los epítomos D. Además, la densidad de antígeno D presente en la membrana eritrocitaria puede variar cuantitativamente en función de las combinaciones haplotípicas Rh y del fenotipo resultante, desde una expresión normal (D+) hasta la mínima

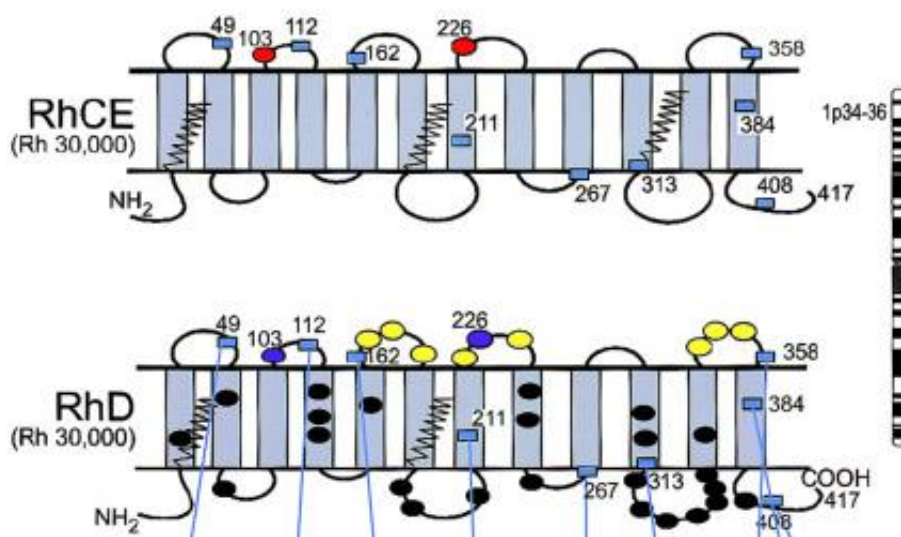


Figura 3. Proteínas RhD y RhCE. Tomada de: Avent *et al*, 2000.

Genes Rh		Terminología		Frecuencia
Gen <i>RHD</i>	Gen <i>RHCE</i>	Fisher/Race	Wiener	(%)*
D	Ce	CDe	R ₁	40.76
D	cE	cDE	R ₂	14.11
D	ce	cDe	R ₀	2.57
D	CE	CDE	R _z	0.24
d	ce	cde	r	38.86
d	Ce	Cde	r'	0.98
d	cE	cdE	r''	1.19
d	CE	CdE	r ^v	<0.0001

Figura 4. Terminología y frecuencia en Europa de las combinaciones de antígenos Rh. Elaboración propia.

expresión (que no ausente) de antígeno D (fenotipo Del). Los individuos Dce/DcE son los que expresan mayor cantidad de antígeno D (110.000-200.000 sitios D por célula) y los DCE/dce la menor (10.000-15.000 sitios D por célula)³.

Aparte de esta variabilidad antigénica intrínseca a la expresión alélica habitual, pueden surgir variantes alélicas (mutaciones) de la secuencia del gen *RHD*, que dan lugar a cambios aminoacídicos en posiciones puntuales que asocian diferentes consecuencias fenotípicas. Existen más de 450 variantes alélicas *RHD* con expresión anómala del antígeno RhD, que se engloban en variantes parciales, débiles y variantes DEL (figura 5).

- D parcial:

Los individuos con variantes D parcial sufren un déficit cualitativo de la proteína, es decir, han perdido la totalidad del epítipo. Tienen altas probabilidades de sensibilizarse (generar aloanticuerpos anti-D) cuando se exponen, por transfusión sanguínea o feto-materna, a hematíes con antígenos D íntegros, por lo que deben recibir hematíes D negativos. Los epítipos 6 y 7 son los más inmunogénicos, su carencia incrementa enormemente el riesgo de aloinmunización. La variante DVI es el paradigma de variante

D parcial y es clínicamente la más importante en población caucásica porque es la que más se sensibiliza, al ser la variante con mayor ausencia de epítipos RhD. La principal base molecular son los genes híbridos (*RHD*-*CE*-*D*): el gen *RHD* sufre recombinación intergénica con el gen *RHCE*, favorecida por la proximidad de estos dos genes en el locus RH, su elevada homología y su orientación opuesta. Otros mecanismos moleculares son las mutaciones puntuales en el gen *RHD* que afectan a posiciones localizadas en los loops extracelulares, alterando la expresión de determinados epítipos. Un ejemplo es la variante DAR, definida por una triple mutación C602G en el exón 4, T667G en el exón 5 y T1025C en el exón 7.

- D débil:

Las variantes D débil comprenden un trastorno cuantitativo. Se definen por una densidad de antígeno D disminuida, con menos de 5.000 moléculas por hematíe. A diferencia de las variantes D parciales, todos los epítipos se están expresando en mayor o menor medida, por lo que la mayoría de los individuos no presentan riesgo de sensibilización anti-D. En población caucásica RhD positiva se estima un 0.2-1% de fenotipo D débil. La base molecular son las mutaciones puntuales en el gen *RHD* que comportan cambios aminoacídicos que afectan regiones transmembrana o

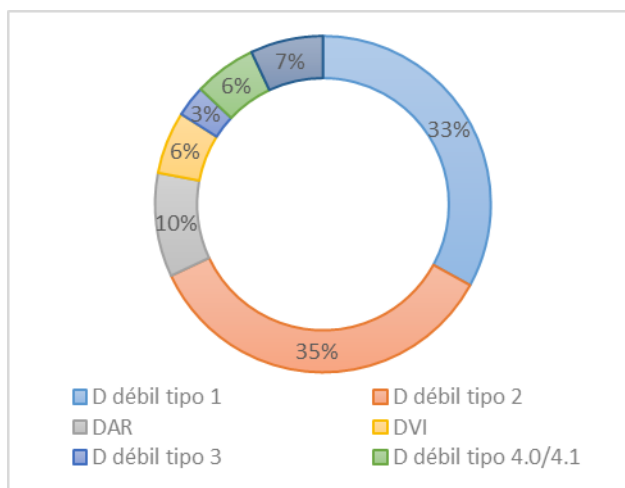


Figura 5. Frecuencia de las variantes RhD. Elaboración propia.

intracelulares. No se altera la conformación de los epítomos, pero sí afectan a la eficiencia de translocación e inserción de la proteína RhD en la membrana celular. Se han descrito más de 145 variantes D débiles diferentes. En la población caucásica, las más frecuentes (más del 90%) son el D débil tipo 1, tipo 2, tipo 3, o tipo 4.0/4.1; siendo las más comunes en zona mediterránea las tipo 1 y 2. La tipo 3 predomina en la zona centroeuropea. Estas variantes se asocian con una densidad determinada de antígeno RhD por hematíe: la tipo 2 (0-500), la tipo 1 (cerca de 1.000), la tipo 3 (1.500-2.000) y la tipo 4 (2.000-2.500). Existen otras variantes D débil menos frecuentes que están representadas en poblaciones concretas, como la tipo 38 (Galicia, Portugal y Brasil) o la tipo 59 (España y Argentina)⁴.

- Variantes DEL:

Estas variantes son muy raras y se caracterizan por una expresión muy débil de antígenos D por hematíe, menos de 22. Se han descrito casos de inmunización anti-D en receptores D negativos al recibir transfusión de fenotipo Rh DEL⁵.

7.2. Tipificación serológica del antígeno RhD

La metodología de la tipificación serológica requiere de hematíes problema y de un reactivo (anticuerpo/s) con especificidad anti-D que produce la sensibilización y aglutinación de los hematíes D positivo. Se puede detectar de forma directa o indirecta (si además se añade antiglobulina humana). La importancia clínica de detectar las variantes RhD radica discriminar entre ALO o AUTO anti-D. Todo ello para conseguir una administración racional de la inmunoprofilaxis en las mujeres embarazadas, así como un uso adecuado de las unidades D – en los Bancos de Sangre. Se puede realizar en tubo de ensayo, tarjeta de gel o autoanализador. En la tipificación serológica del antígeno D hay que tener en cuenta a quién estamos tipificando:

- En donantes:

El objetivo es etiquetar como RhD positivo toda bolsa proveniente de un individuo en la que se detecte aglutinación

con un reactivo anti-D, por muy débil que sea. Se busca una elevada sensibilidad que nos permita detectar positividad, ya que no nos interesa transfundir sangre DVI+ a pacientes negativos. El grupo Rh (D) se determinará por duplicado usando dos reactivos anti-D diferentes que permitan detectar las variantes D parcial más frecuentes en la población (la DVI) y la mayoría de variantes D débil⁶.

Cuando en la primera donación no haya aglutinación con uno o los dos reactivos comerciales se repetirá y se intentará revelar la aglutinación con la prueba indirecta de la antiglobulina, para detectar aglutinaciones débiles de los hematíes. Un resultado positivo con uno o más reactivos permitirá catalogar al donante como D positivo. Un resultado negativo con todos los reactivos define al donante como D negativo. Las discordancias entre los diferentes reactivos o las reacciones leves indican que el donante puede ser portador de una variante RhD por lo que se considerará D positivo de forma temporal, hasta que se realice estudio molecular que confirme la variante.

- En pacientes (incluidas gestantes):

El objetivo es minimizar el riesgo de aloinmunización anti-D. Interesa minimizar al máximo los falsos positivos. Los pacientes no deben clasificarse como D+ por una reacción débil con un único reactivo.

Se deben usar anticuerpos monoclonales anti-D potentes, de tipo IgM, mediante aglutinación directa, que van dirigidos contra epítomos 6 y 7 y que no reaccionen con la variante DVI. Si no se obtienen resultados claramente positivos, debemos clasificar inicialmente al paciente como D negativo⁷. Se recomienda, además, fenotipar el resto del sistema Rh del paciente: C/c y E/e. Si el paciente expresa C y/o E probablemente va a ser un RhD positivo. Por el contrario, si el paciente es C- y E- (c+ y e+) probablemente va a ser RhD negativo.

BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. Avent ND, Reid ME. The Rh blood group system: a review. Blood. 2000;95(2):375–87.

2. Sociedad Española de Transfusión Sanguínea y Terapia Celular. Guía sobre la transfusión de componentes sanguíneos y derivados plasmáticos. 5.^a ed. Barcelona; 2015.
3. Muñoz-Díaz, E., Cotorruelo, C., Nogués, N., 2014. Sistema Rh. In Inmunohematología básica y aplicada. Cali, Colombia: Feriva, pp. 103–136.
4. Sandler SG, Chen LN, Flegel WA. Serological weak D phenotypes: a review and guidance for interpreting the RhD blood type using the RHD genotype. Br J Haematol. 2017 Oct;179(1):10-19.
5. Flegel WA, Wagner FF. DEL. Blood Transfus. 2020;18(3):159–62.
6. Schmidt LC, Castilho L, Vieira OV, et al. Impact of a confirmatory RhD test on the correct serologic typing of blood donors. Rev Bras Hematol Hemoter. 2015 Sep-Oct;37(5):302-5.
7. Carson JL, Grossman BJ, Kleinman S, et al. Clinical Transfusion Medicine Committee of the AABB. Red blood cell transfusion: a clinical practice guideline from the AABB. Ann Intern Med. 2012 Jul 3;157(1):49-58.

12-CUANDO EL FROTIS ENCUENTRA LO QUE EL TC CRANEAL NO VE

Autores: Irene Zamanillo Herreros¹, Aida Frías González², Marina Rosalía Quesada Sánchez¹

¹Servicio de Hematología y Hemoterapia, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

²Servicio de Nefrología, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Palabras clave: Púrpura trombótica trombocitopénica, Microangiopatía trombótica, ADAMTS13

1. INTRODUCCIÓN

Las microangiopatías trombóticas (MAT) son un conjunto de entidades graves que a menudo ponen en riesgo la vida de los pacientes. Se pueden dar en personas jóvenes y en algunos casos requieren instauración de tratamiento urgente. Se caracterizan por presentar anemia hemolítica microangiopática con afectación variable de distintos órganos. El conocimiento de su fisiopatología ha aumentado de forma notable en los últimos años, lo que ha conducido al desarrollo de tratamientos específicos y a una mejoría en el pronóstico de estas entidades. A continuación, se presenta un caso de MAT con debut en forma de clínica neurológica.

2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

Varón de 47 años procedente de Perú que como único antecedente presentaba un episodio de herpes zoster resuelto sin secuelas. Fue traído a Urgencias por código ictus al presentar clínica neurológica de instauración aguda. El paciente fue valorado por el Servicio de Neurología, quienes realizaron una exploración neurológica exhaustiva, destacando una afasia mixta (motora y sensitiva), hemianopsia homónima derecha y paresia facial (Escala NIHSS 7). A la exploración física destacaba tinte icterico de conjuntivas y la existencia de petequias en la región torácica.

3. RESULTADOS DE LABORATORIO

Análiticamente el paciente presentaba los siguientes datos:

3.1 Hemograma:

Hemáties 2,74 xmill/ μ l [4,20-5,60 xmill/ μ l], Hemoglobina 9,0 g/dL [13-16,8 g/dL], Hematocrito 25,9 % [39,1-49,7 %], VCM 94,3 fl [82,5-97,9], RDW 22,0 % [12-14,6 %], Reticulocitos 229,1 x1000/ μ l [17,1-54,5 x1000/ μ l], % Reticulocitos 8,4 % [0,4-1,3 %], Plaquetas 5 x1000/ μ l [140-450], Leucocitos 7,3 x1000/ μ l [4-11,3 x1000/ μ l], Neutrófilos 5,7 x1000/ μ l [1,8-7,4 x1000/ μ l], Linfocitos 1 x1000/ μ l [1,2-4 x1000/ μ l], Monocitos 0,4 x1000/ μ l [0,3-0,9 x1000/ μ l], Eosinófilos 0,1 x1000/ μ l [0-0,5 x1000/ μ l], Basófilos 0 x1000/ μ l [0-0,1 x1000/ μ l].

3.2 Bioquímica:

Creatinina 1,05 mg/dL [0,70-1,20 mg/dL], Sodio 139 mEq/L [136-145 mEq/L], Potasio 4,19 mEq/L [3,50-5,10 mEq/L], Cloro 102 mEq/L [98-107 mEq/L], Proteínas Totales 6,4 g/dL [6,4-8,3 g/dL], Albúmina 4,3 g/dL [3,5-5 g/dL], ALT (GPT) 81 U/L [5-45 U/L], AST (GOT) 52 U/L [5-33 U/L], Gamma-GT 16

U/L [8-61 U/L], Fosfatasa Alcalina 63 U/L [40-130 U/L], LDH 650 U/L [135-225 U/L], Bilirrubina 5,4 mg/dL [0,2-1 mg/dL], Proteína C Reactiva 0,18 mg/dL [0,10-0,50 mg/dL].

3.3 Coagulación:

Actividad de Protrombina 93% [75-140 %], Tiempo de Protrombina 12 s [9,7-13,9 s], INR 1,05 [0,80-1,20], TTPa 32 s [26-39 s].

Ante la presencia de anemia y trombopenia marcada con datos de hemólisis (aumento de reticulocitos, bilirrubina y LDH) se sospechó la presencia de una anemia hemolítica microangiopática.

Se realizó un frotis de sangre periférica de forma urgente en el que se evidenció la presencia de esquistocitos (5-6 esquistocitos por campo de gran aumento), sin otras alteraciones reseñables.

4. DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES

4.1 Púrpura Trombótica Trombocitopénica (PTT):

Por su gravedad y la urgencia que requiere el tratamiento es la primera entidad a descartar. Es la más frecuente en adultos y suele presentar afectación neurológica.

4.2 Síndrome Hemolítico Urémico (SHU):

Más común en niños. Es secundaria a la liberación de toxinas producidas por ciertos microorganismos (*Escherichia coli* O157:H7 y *Shigella dysenteriae*), por lo que se suele identificar un antecedente de infección abdominal con cuadro diarreico. Las toxinas producen daño en el endotelio renal, lo que conduce a un estado protrombótico local. En el cuadro clínico suele predominar la afectación renal y el curso suele ser autolimitado.

4.3 Síndrome hemolítico urémico atípico (SHUa):

Se debe a defectos en la regulación de la vía alternativa del complemento. Puede ser de origen primario (genético o por con autoanticuerpos), o secundario (en contexto de enfermedades autoinmunes, infecciones, determinados fármacos, etc.). Predomina la afectación renal en forma de insuficiencia renal, proteinuria generalmente subnefrótica y microhematuria, así como la hipertensión arterial.

4.4 Síndrome de Evans:

Cuadro consistente en anemia hemolítica y trombopenia de origen inmune. Suele presentar un test de Coombs positivo. Puede presentar un factor desencadenante. Las

manifestaciones clínicas suelen estar derivadas exclusivamente de la presencia de citopenias.

4.5 Coagulación Intravascular Diseminada (CID):

Cursa con una activación incontrolada de la circulación que conduce a la formación de microtrombos de forma diseminada. Produce alteración en los tiempos de coagulación por consumo de factores. La afectación renal es frecuente en el curso de la enfermedad, pero la afectación neurológica es poco común.

4.6 Preeclampsia:

Se da en gestantes y cursa con hipertensión arterial, proteinuria y edemas periféricos. En casos graves pueden aparecer datos de microangiopatía trombótica.

5. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

Al presentar el paciente una clínica neurológica compatible con obstrucción de gran vaso, se realizaron pruebas de neuroimagen (TC craneal y angio-TC urgentes), en las que no se evidenciaron datos de sangrado intracraneal ni oclusión de grandes vasos.

Así mismo, con el fin de descartar un Síndrome de Evans se solicitó un test de Coombs directo que resultó negativo.

Dada la clínica y los hallazgos de laboratorio, el paciente presentaba una alta sospecha clínica para PTT, por lo que se inició tratamiento de forma urgente mediante plasmaféresis con reposición con plasma fresco congelado y corticoterapia con metilprednisolona a dosis de 1,5 mg/kg. Previamente a la realización de la plasmaféresis se extrajeron muestras para la determinación de actividad de ADAMTS13, así como la existencia de anticuerpos dirigidos contra ella.

6. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

En menos de 24 horas se dispuso del resultado de la actividad de ADAMTS13, siendo esta del 0% con la detección de anticuerpos inhibidores a alto título. Con estos resultados quedó confirmado el diagnóstico de PTT adquirida y se decidió la adición al tratamiento de rituximab y caplacizumab, que recibió sin la aparición de efectos adversos.

Se realizó además un despistaje de enfermedades subyacentes (autoinmunes, infecciosas, tumorales...) sin producirse ningún hallazgo patológico.

7. EVOLUCIÓN

El paciente presentó una evolución clínica favorable, con recuperación completa de los déficits neurológicos y de los recuentos en sangre periférica, lo que permitió espaciar y finalmente cesar las sesiones de plasmaféresis, y descender de forma paulatina la dosis de corticoides hasta su suspensión. Recibió un total de 4 dosis de rituximab y caplacizumab durante 60 días. Como efecto adverso del tratamiento, el paciente presentó un cuadro urticariforme con aparición de lesiones cutáneas eritematosas y pruriginosas durante una sesión de plasmaféresis resueltas tras administración de dexclorfeniramina y una dosis de

actocortina, y que se interpretó como una posible reacción al plasma fresco congelado. Posteriormente se premedicaron las sesiones con dexclorfeniramina sin reaparición de esta sintomatología.

Actualmente el paciente se encuentra asintomático en régimen de seguimiento ambulatorio y sin ningún tratamiento activo. Mantiene una respuesta completa y la última determinación de actividad de ADAMTS13 es del 43,82%, dentro del rango de normalidad.

8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

La PTT es una enfermedad grave e infrecuente que se engloba dentro de las MAT, las cuales se caracterizan por presentar anemia hemolítica microangiopática y trombopenia secundaria a la formación de trombos en la microcirculación, lo cual conduce a un daño orgánico de localización e intensidad variable. Su incidencia se calcula alrededor de 3-4 casos por 1000000 habitantes por año.

8.1 Fisiopatología:

De forma fisiológica los multímeros de alto peso molecular del factor de von Willebrand (FvW), que presentan gran afinidad por las plaquetas, son producidos por el endotelio. Posteriormente son escindidos sobre la superficie endotelial por la metaloproteasa ADAMTS13 presente en el plasma, lo que evita que se liberen a la circulación.

En la PTT se produce un descenso de la actividad de ADAMTS13. Existen dos formas según su origen:

- Adquirida: Más frecuente y de origen autoinmune. Se debe a la producción de autoanticuerpos anti-ADAMTS13 patológicos. A su vez puede ser primaria o secundaria a una gran cantidad de enfermedades autoinmunes, tumorales o infecciosas, o ser desencadenada por el embarazo o toma de fármacos.
- Congénita: También llamada síndrome de Upshaw-Schulman. Se da en pacientes con alteraciones genéticas en ADAMTS13, lo cual condiciona un déficit en su actividad. No se detectan anticuerpos inhibidores.

Al descender la actividad de esta metaloproteasa, los multímeros del FvW inducen la unión de plaquetas dando lugar a la formación de microtrombos de forma diseminada.

Estos microtrombos obstruyen la microcirculación induciendo isquemia tisular y anemia hemolítica microangiopática.

8.2 Presentación clínica:

Se suele presentar entre los 30-40 años y es discretamente más frecuente en mujeres (3:2). La presentación es aguda, con una evolución rápida en horas o días.

Clásicamente la sintomatología de la PTT se ha resumido en la pentada de anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia, fiebre, alteraciones neurológicas y deterioro de la función renal. Los síntomas más frecuentes se resumen en la tabla 1.

La PTT es una enfermedad grave que sin el tratamiento adecuado conduce a la muerte al 90% de los pacientes. Es considerada una urgencia hematológica, ya que el 50% de los fallecimientos por esta causa se producen en las primeras

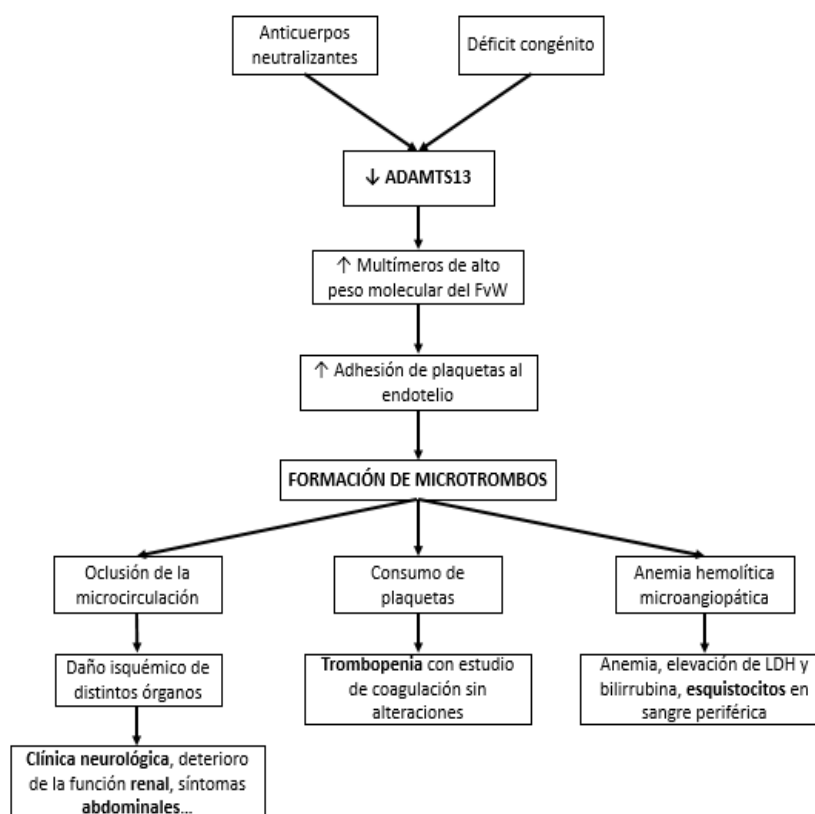


Figura 1. Fisiopatología de la PTT. Elaboración propia.

Neurológicos (52-92%)	Puede ser fluctuante. Cefalea, focalidad neurológica, convulsiones, disminución del nivel de conciencia...
Renales (10-75%)	Generalmente leve
Fiebre (24-98%)	-
Manifestaciones hemorrágicas (frecuencia variable)	Petequias, equimosis, raro epistaxis, metrorragias o sangrado en otras localizaciones
Abdominales (frecuencia variable)	Náuseas, vómitos, dolor abdominal, diarrea

Tabla 1. Manifestaciones clínicas más frecuentes de la PTT. Adaptado de De la Rubia J et al., 2019.

24 horas. Son frecuentes las recaídas, que se dan en un 30-50% de los pacientes).

8.3 Hallazgos de laboratorio:

- Analítica básica

Los hallazgos iniciales más frecuentes son anemia, trombopenia y elevación de parámetros de hemólisis (LDH y bilirrubina). Se trata de una anemia regenerativa con reticulocitos elevados (excepto si existen otras entidades sobreañadidas al cuadro que impidan una adecuada respuesta medular). La trombopenia es frecuentemente grave. Se debe solicitar así mismo una coagulación básica con determinación de fibrinógeno y D dímeros, que en el caso de la PTT no presentará grandes alteraciones, así como

un estudio de función renal con orina para descartar la afectación de este órgano.

- Frotis de sangre periférica

Es característica la presencia de esquistocitos. La presencia de >1 esquistocito por 100 hematíes es altamente sugestiva de MAT.

- Coombs directo

Será negativo. Útil para el diagnóstico diferencial con la anemia hemolítica autoinmune.

- Determinación de la actividad de ADAMTS13

Se realiza en laboratorios de referencia. Niveles inferiores al 5-10% (dependiendo de los niveles de referencia del laboratorio) aportan la confirmación diagnóstica del cuadro.

Las técnicas clásicas se basan en la degradación del FvW tras enfrentarlo con el plasma a analizar (por ejemplo, con análisis de los multímeros de alto peso o de la actividad del FvW). Otros métodos más modernos utilizan técnicas de enzimoimmunoanálisis en las que fragmentos del FvW que contienen el lugar de unión de la ADAMTS13 se conjugan con marcadores y se enfrentan al plasma problema, tras lo cual se mide el sustrato restante. Permiten una medición más exacta de la actividad de la ADAMTS13.

- Determinación de anticuerpos inhibidores de ADAMTS13

La mayoría son de tipo IgG y permiten el diagnóstico etiológico. Son positivos en el 90% de las PTT adquiridas.

8.4 Pruebas de neuroimagen:

Indicadas en caso de sospecha de sangrado intracraneal o trombosis de gran vaso, que pueden aparecer como complicación en la presentación de la enfermedad.

8.5 Tratamiento:

El tratamiento se basa en dos pilares fundamentales: por un lado, el recambio plasmático terapéutico (RPT) o plasmaféresis y por otro, inmunosupresión para eliminación del anticuerpo inhibidor.

- RPT:

Con el objetivo de eliminar los anticuerpos ya producidos y de reponer la proteína deficiente. Debe instaurarse lo antes posible ya que el retraso aumenta la mortalidad.

- Inmunosupresión:

El fin es la supresión de la producción de anticuerpos dirigidos contra la ADAMTS13.

Corticoides: Tratamiento clásico de primera línea.

Rituximab: En estudios recientes se ha demostrado que disminuye el tiempo hasta la respuesta y la tasa de recaídas, por lo que se puede considerar junto a los corticoides en primera línea. También resulta útil para el tratamiento de la PTT refractaria o de las recaídas.

Otros inmunosupresores: azatioprina, micofenolato, ciclofosfamida, ciclosporina... Utilizados en caso de refractariedad o recaída.

- Caplacizumab:

Anticuerpo monoclonal que inhibe la unión del FvW a la glicoproteína plaquetaria Ib, evitando así la producción de microtrombos. En ensayos clínicos ha demostrado una disminución del tiempo hasta la respuesta y disminución de la mortalidad relacionada con PTT, recurrencia y eventos trombóticos (endpoint combinado). Indicado para adultos y adolescentes a partir de 12 años con un episodio de PTT adquirida junto con RPT e inmunosupresión.

BIBLIOGRAFIA GENERAL

- De la Rubia J, Fernández-Zarzoso M, Sanz M.A. Púrpura trombótica trombocitopénica y síndrome hemolítico urémico. En: Rovira M, Sanz J. Manual Práctico de Hematología Clínica. 6ª ed. Barcelona: Antares; 2019. p. 477-482.
- De la Rubia J, Contreras E, Del Río Garma J. Thrombotic thrombocytopenic purpura. Med Clin (Barc). 2011;136(12):534-40.
- Joly B. S, Coppo P, Veyradier A. Thrombotic thrombocytopenic purpura. Blood. 2017;127(21):2836-46.
- George JN, Al Nouri ZL. Diagnostic and therapeutic challenges in the thrombotic thrombocytopenic purpura and hemolytic uremic syndromes. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2012:604-9.
- Peyvandi F and Callewaert F. Caplacizumab for acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. N Engl J Med. 2016;374:2497-2498.
- Scully M, Cataland SR, Peyvandi F, Coppo P, Knöbl P, Kremer Hovinga JA et al. Results of the randomized, double-blind, placebo-controlled, phase 3 HERCULES study of caplacizumab in patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura [abstract no. LBA-1 plus presentation]. Blood. 2017;130-1.
- Tina Dutt, Shaw RJ, Stubbs M, Yong J, Bailiff B, Cranfield T et al. Real-world Evidence of caplacizumab use in the management of acute TTP. Blood. 2021;137(13):1731-1740.

13-ENFERMEDAD POR HEMOGLOBINA H

Autores: Marta Hidalgo Soto¹; Ana Ortuño Cabrero², Adoración Blanco Álvarez³

¹Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid; ²Hospital Universitari Vall D'Hebron

³Servicio de Biología Molecular. Hospital Universitario Vall d'Hebron

Palabras clave: Anemia, alasemia, Hemoglobina H

1. INTRODUCCIÓN

Las talasemias son las enfermedades monogénicas más frecuentes en la población mundial, en las cuales están afectados los genes de las cadenas de globina produciendo una disminución o ausencia en la síntesis de una o más cadenas de globina. La prevalencia exacta de la α -talasemia se desconoce debido al infradiagnóstico y al establecimiento de registros nacionales en solo unos pocos países, aunque se ha reportado la prevalencia más alta en África Central, área del Mediterráneo, Medio Oriente y el sudeste asiático¹⁻³.

La síntesis de las cadenas α -globina está regulada por cuatro genes (dos genes HBA1 ($\alpha 1$) y dos genes HBA2 ($\alpha 2$), uno de ellos por cada alelo) situados cerca del telómero del brazo corto del cromosoma 16 (16p13.3)⁴. La afectación de tres de estos genes, ya sea por mutaciones deleciónales (- / - α) o por mutaciones no deleciónales (- / $\alpha T\alpha$, - / $\alpha\alpha T$), da como resultado la enfermedad de la hemoglobina H (Hb H). Esta entidad se ha categorizado tradicionalmente como una forma de talasemia intermedia^{1,4}. El subtipo no deleciónal suele dar lugar a un fenotipo más severo caracterizado por una mayor eritropoyesis ineficaz, causado por una mayor reducción en la síntesis de cadenas α . Por lo general, la primera manifestación clínica a menudo aparece en forma de anemia sintomática asociada a otros episodios concurrentes como son las infecciones⁴.

La mayoría de los casos de enfermedad por Hb H son el resultado de una deleción del gen de la α -globina en cis (- / -) heredada de uno de los padres, combinada con la deleción en el otro alelo de un solo gen (- α / -), lo que conduce a una relación de desequilibrio del ratio globina α : β con la formación de Hemoglobina de Bart ($\gamma 4$) y Hb H ($\beta 4$) en el período fetal y posnatal, respectivamente^{1,4,5}.

2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

2.1 Motivo de consulta:

Se trata de una niña de 6 meses de edad, hija de progenitores procedentes de Oriente Medio con relación de consanguinidad. El embarazo estuvo bien controlado y sin incidentes, con controles ecográficos prenatales regulares que no mostraron anomalías en el desarrollo. El parto fue a término por cesárea, sin necesidad de ingreso neonatal. Su peso al nacer fue de 3200 g, con perímetro cefálico y fontanela anterior dentro de los parámetros normales.

2.2 Antecedentes personales:

La paciente no presentaba antecedentes personales relevantes

2.3 Antecedentes familiares:

Los progenitores no referían antecedentes familiares de interés.

2.4 Exploración física:

En la exploración física destacaba leve esplenomegalia sin otros signos de anemia hemolítica como palidez o ictericia.

3. INFORME DEL LABORATORIO

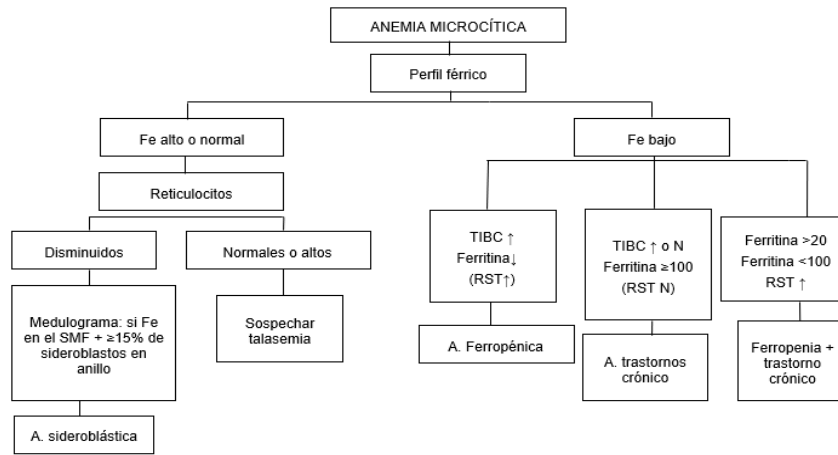
El hemograma de la paciente se realizó utilizando un contador celular automático (Sysmex XS-1000i®). En la Tabla 1 se muestran los niveles de hemoglobina, volumen corpuscular medio (MVC) y hemoglobina corpuscular media (HCM) de la probando y sus padres. Se objetivó que en todos ellos los niveles de parámetros mencionados estaban disminuidos en comparación con la referencia normal. No se observó ninguna otra citopenia en el hemograma ni alteraciones significativas en la bioquímica con un perfil férrico normal.

4. DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES

Para realizar un correcto abordaje de la anemia, se debe comenzar realizando una exhaustiva y ordenada historia clínica con antecedentes familiares, personales, hábitos dietéticos, fármacos u otros tóxicos, historial de transfusiones y anamnesis por aparatos. Además, es imprescindible solicitar el recuento de reticulocitos para diferenciar una anemia regenerativa de arregenerativa. En función del VCM, se establece una clasificación morfológica de la anemia en tres grupos (normocítica, microcítica y macrocítica), la cual es la más utilizada para dirigir el diagnóstico etiológico (Figura 1). En nuestro caso, nos hallamos ante una anemia microcítica, hipocrómica y con reticulocitosis.

5. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

Se realizó un análisis HPLC (High Performance Liquid Chromatography), mostrando un pico anormal en el tiempo de retención de la hemoglobina de Bart del 10,6%, mientras que la hemoglobina fetal (Hb F), HbA1 y HbA2 fueron del 8,9%, 69,9% y 1,5%, respectivamente (Tabla 1, Figura 2). El nivel de HbA2 del padre fue de 2.5%, siendo más bajo del nivel esperado, así como VCM y HCM. En cuanto a la madre del probando, tenía anemia microcítica hipocrómica leve con varios eritrocitos en el rango normal. Por lo tanto, estas observaciones nos permitieron sospechar que la probando y su familia tenían un fenotipo de α -talasemia.



Fe: Hierro; RST: receptor soluble de la transferrina; SMF: sistema mononuclear fagocítico; TIBC: capacidad total de la fijación de hierro. Elaboración propia.

Figura 1. Algoritmo diagnóstico de la anemia microcítica

Parámetros	Probando	Madre	Padre
Hematíes ($10^{12}/L$)	5.53	4.82	5.23
Hemoglobina (g/dL)	8.3	11.2	12.1
VCM (fl)	47.7	76.2	77.6
HCM (pg)	15	23.1	23.1
ADE (%)	22.8	17.9	13.7
Reticulocitos ($10^9/L$)	90.7	56	111.9
Hb A2 (%)	1.5	2.7	2.5
Hb F (%)	8.9	0.7	0.9
Hb H (%)	10.6	0	0

VCM: Volumen corpuscular medio; HCM: Hemoglobina corpuscular media; ADE: Amplitud de distribución eritrocitaria; Hb F: Hemoglobina fetal; Hb H: Hemoglobina H.

Tabla 1. Parámetros analíticos más significativos del paciente y sus progenitores.

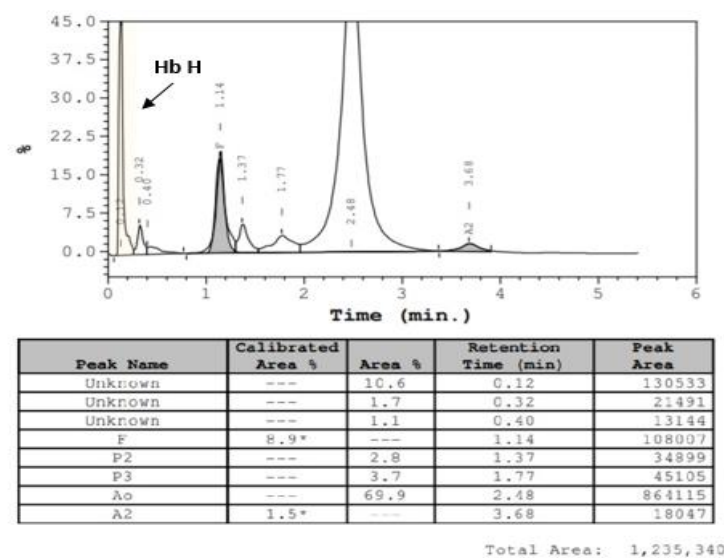


Figura 2. HPLC de la paciente, en el cual se observa la separación de las diferentes hemoglobinas en función de su carga eléctrica.

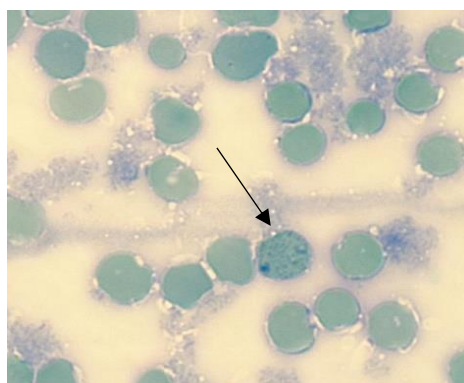


Figura 3. Frotis de sangre periférica con tinción supravital, observando un hematíe en “pelota de golf”, con inclusiones intraeritrocitarias correspondientes al precipitado de la Hb H.

En el frotis de sangre periférica, se puede observar en los hematíes una distribución anómala de la hemoglobina con abundantes dianocitos. La tinción con azul de cresil brillante mostró que más de un 10% de los eritrocitos presentaban inclusiones intracorpúsculares correspondientes al precipitado de hemoglobina H (precipitados de tetrámeros β) (Figura 3), lo que puede dañar la membrana y inducir hemólisis. Estos cuerpos de inclusión inestables también se pueden encontrar en la α_0 -talasemia, aunque en un porcentaje mucho menor, siendo un hallazgo raro.

6. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

El diagnóstico de mutaciones de α -talasemia se puede llevar a cabo mediante una combinación de diferentes métodos: gap-PCR (reacción en cadena de la polimerasa) para las mutaciones deleciónales más comunes, MLPA ((multiplex ligation-dependent probe amplification), tecnologías de secuenciación de última generación como NGS (Next Generation Sequencing) o Sanger para casos con mutaciones no deleciónales⁴⁻⁷.

En nuestro estudio, la detección de mutaciones del gen de la α -globina se llevó a cabo mediante un ensayo basado en PCR e hibridación inversa que cubre las 21 mutaciones más

prevalentes de la α -globina (α -Globin StripAssay®, ViennaLab Diagnostics GmbH). El procedimiento de esta técnica incluye tres pasos: (1) aislamiento de ADN, (2) amplificación por PCR usando cebadores biotinilados, (3) hibridación de productos de amplificación con tiras de prueba que contienen sondas de oligonucleótidos específicos de alelo inmovilizados como una matriz de líneas paralelas. Se realizó un análisis de α -Globin StripAssay® en el paciente y sus padres, que reveló la presencia de deleción - α 3.7 en el probando y su madre (Figura 4). No se detectaron mutaciones prevalentes por este método en el padre. Además, se realizó un ensayo SALSA® MLPA® P140-C1HBA (MRC-Holland, Amsterdam, Holanda), para detectar mutaciones más amplias no detectadas con los métodos anteriores. En el estudio realizado, se detectó en la paciente una gran deleción de aproximadamente 39,1 kb en el grupo de genes de la α -globina, que también estaba presente en el padre en heterocigosis (del cual lo heredó) (Figura 5).

La disminución de la señal en nuestro probando es compatible con la existencia de una deleción - α 3.7 combinado con otra deleción más amplia (-39.1 kb) heredada del que implica una pérdida completa de los dos genes alfa (HBA1 y HBA2), así como la pérdida de una copia

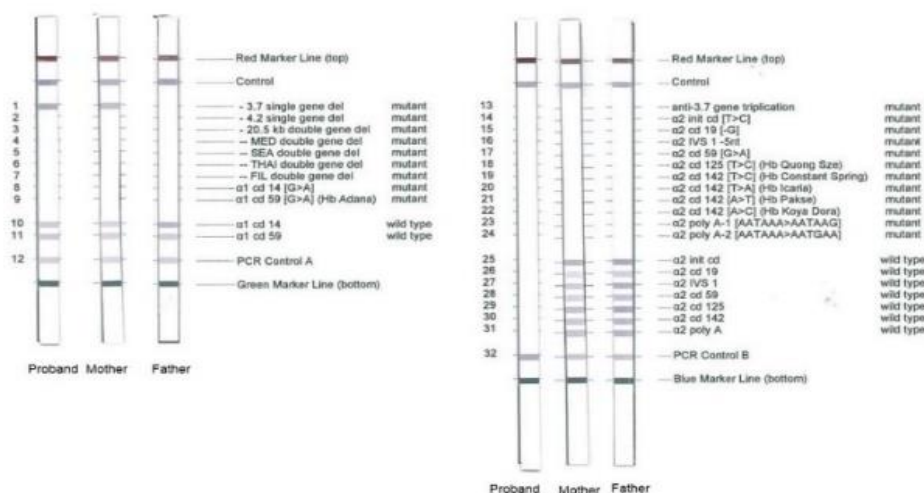


Figura 4. α -Globin StripAssay® analysis

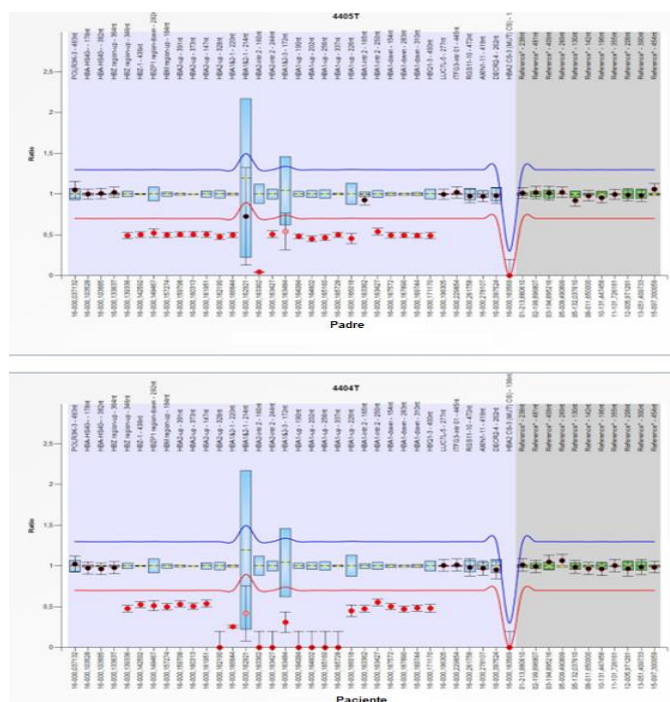


Figura 5. Análisis MLPA realizado en la paciente y su padre.

para HBZ, HBQ1 y hemoglobina mu (HBM). En el estudio realizado por Sanger no se detectaron variantes patogénicas en los genes HBA1, HBA2 o HBB.

7. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

La variabilidad clínica y fenotípica de la enfermedad por HbH depende de una heterogeneidad genética considerable y del grado de desequilibrio entre en ratio α/β (el cual en condiciones normales debe ser igual a 1). Es de esperar que cuanto mayor sea el nivel de Hb H detectado, más probabilidades habrá de que el paciente presente un mayor grado de anemia funcional⁸. Todos los individuos que presentan esta enfermedad tienen un grado variable de anemia, microcitosis e hipocromía. Por ello, es común realizar un diagnóstico erróneo de anemia ferropénica en los niños, iniciando terapias innecesarias que pueden incluso agravar la sobrecarga de hierro que ya conlleva esta enfermedad⁹. Así mismo, los pacientes con HbH pueden requerir terapia de transfusión intermitente, especialmente durante enfermedades intercurrentes como infecciones o intervenciones invasivas^{4,9}. El consejo genético para parejas de riesgo debe ser parte de los programas nacionales de salud pública y debe ofrecerse a parejas con antecedentes de talasemia.

BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. E. Vichinsky, "Complexity of alpha thalassemia: growing health problem with new approaches to screening, diagnosis, and therapy," *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 1202, pp. 180–187, 2010.
2. Modell B, Darlison M. Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators. *Bull World Health Organ*. 2008;86(6):480-487.
3. Weatherall DJ. Keynote address: the challenge of thalassemia for the developing countries. *Ann N Y AcadSci*. 2005;1054(1):11–7.
4. Piel FB, Weatherall DJ. The α -thalassemias. *N Engl J Med*. 2014;371(20):1908-1916
5. Harteveld CL, Higgs DR. Alpha-thalassaemia. *Orphanet J Rare Dis*. 2010 May 28;5:13.
6. A. E. S. Souza, G. L. Cardoso, S. Y. L. Takanashi, and J. F. Guerreiro, "α-Thalassemia (3.7 kb deletion) in a population from the Brazilian Amazon region: Santarém, Pará State," *Genetics and Molecular Research*, vol. 8, no. 2, pp. 477–481, 2009.
7. Viprakasit V, Ekwattanakit S. Clinical Classification, Screening and Diagnosis for Thalassemia. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2018 Apr;32(2):193-211
8. Papassotiriou I, Traeger-Synodinos J, Kanavakis E, Karagiorga M, Stamoulakatou A, Kattamis C. Erythroid marrow activity and haemoglobin H levels in haemoglobin H disease. *J Pediatr Hematol Oncol*, 1998, 20(6):539-54
9. Yao X, Xu LH, Xu HG, Li XY, Liu Y, Fang JP. Iron Metabolism and Oxidative Status in Patients with Hb H Disease. *Hemoglobin*. 2019;43(1):38-41.

14-PACIENTE CON MIOCARDIOPATÍA DILATADA Y DETERIORO DE LA FUNCIÓN RENAL

Autores: Rafael Colmenares Gil, José María Sánchez Pina

Servicio de Hematología y Hemoterapia, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Palabras clave: Mieloma múltiple, Electroforesis, Inmunofijación

1. INTRODUCCIÓN

Las gammapatías monoclonales son un grupo de alteraciones caracterizadas por la proliferación de un único clon de células plasmáticas, produciendo una proteína (inmunoglobulina) conocida como paraproteína o componente monoclonal, que puede ser maligna (produciendo diferentes alteraciones orgánicas) o, si es producido por una pequeña expansión clonal, puede no producir síntomas, aunque en ocasiones, se pueden producir alteraciones por las características de la proteína secretada (capacidad para aglutinar hematíes, produciendo enfermedad por aglutininas frías; insolubilidad a bajas temperaturas, produciendo crioglobulinemia, aumento de viscosidad como en la macroglobulinemia de Waldenström, depósito en tejidos con disfunción orgánica como en la amiloidosis, o neuropatía).

El análisis para detectar e identificar la presencia de un componente monoclonal, requiere un método sensible, rápido y seguro.

2. HISTORIA CLÍNICA

2.1 Motivo de consulta:

Se trata de un varón de 65 años derivado al Hospital 12 de Octubre para valoración de opciones terapéuticas por insuficiencia cardíaca.

2.2 Antecedentes personales:

Entre los antecedentes personales destacan:

- Dislipemia.
- Exfumador.
- Miocardiopatía dilatada de origen izquierdo, conocida desde 2015 tras primer episodio de insuficiencia cardíaca, objetivándose disfunción ventricular izquierda grave. Tras recuperación de función ventricular tras la optimización de tratamiento médico hasta 2018, desde inicios del año 2020 presenta empeoramiento de su clase funcional, pérdida ponderal y de masa molecular, deterioro de la función ventricular y ascitis.
- Enfermedad renal crónica, estadio IIIA. Creatinina basal 1,7 mg/dl.

2.3 Antecedentes familiares:

Cardiopatía dilatada en la madre. Un hermano presentó un problema cardíaco por lo que tuvo que dejar de realizar deporte.

2.4 Tratamiento habitual:

- Sacubitril/valsartán 73/77 mg: 1 comprimido cada 12 horas.
- Carvedilol 25 mg: 1 comprimido cada 12 horas.
- Eplerenona 50 mg: 1 comprimido cada 24 horas.
- Atorvastatina 80 mg: 1 comprimido cada 24 horas.
- Furosemida 40 mg: 1 comprimido cada 8 horas.
- Tamsulosina 0,4 mg: 1 comprimido cada 24 horas.

2.5 Enfermedad actual:

Varón de 65 años, dislipémico, exfumador, con una miocardiopatía dilatada de origen incierto, conocida desde 2015 tras un primer episodio, donde se objetiva disfunción ventricular izquierda grave. Tras recuperación de función ventricular tras la optimización de tratamiento médico hasta 2018, posteriormente y desde inicios del año 2020 presenta empeoramiento de su clase funcional, pérdida ponderal y de masa muscular, deterioro de la función ventricular y ascitis. Se deriva al Hospital 12 de Octubre para valoración de opciones terapéuticas, siendo diagnosticado de mieloma múltiple.

2.6 Exploración física:

Constantes vitales: tensión arterial 104/60 mmHg, FC 69 lpm, temperatura 36,2 °C, saturación basal de oxígeno 100%.

Consciente, alerta, orientado. Caquético. Normohidratado, normocoloreado, eupneico en reposo, con buen relleno capilar distal.

Cabeza y cuello: insuficiencia venosa yugular hasta ángulo mandibular.

Tórax: auscultación cardíaca rítmica, con soplo sistólico en foco mitral 4/6; auscultación pulmonar con murmullo vesicular conservado.

Abdomen en batracio, blando, depresible, no doloroso a la palpación, con matidez cambiante y sin signos de irritación peritoneal.

Extremidades inferiores: no edemas ni signos de trombosis venosa profunda.

BIOQUÍMICA	HEMOGRAMA
Glucosa 187 mg/dL [70 - 110] *	Hematíes 2.38 xmill/ μ l [4.20 - 5.60] *
Creatinina 1.77 mg/dL [0.70 - 1.20] *	Hemoglobina 8.0 g/dL [13.0 - 16.8] *
Filtrado Glom. (CKD-EPI) 39 ml/min/1.73m ² [$\geq$ 60] *	Hematocrito 24.0 % [39.1 - 49.7] *
Proteínas Totales 8.4 g/dL [6.4 - 8.3] *	VCM 100.9 fl [82.5 - 97.9] *
NT-proBNP 10286 pg/mL [$\leq$ 125] *	HCM 33.7 pg [27.5 - 33.5] *
HEMOSTASIA	CHCM 33.4 g/dL [32.6 - 35.0]
Actividad de Protrombina 97 % [75 - 140]	RDW 18.6 % [12.0 - 14.6] *
TTPa 25 s [26 - 39] *	Plaquetas 147 x1000/ μ l [140 - 450]
	Leucocitos 3.8 x1000/ μ l [4.0 - 11.3] *
	Neutrófilos 2.3 x1000/ μ l [1.8 - 7.4]
	Linfocitos 1.0 x1000/ μ l [1.2 - 4.0] *

Tabla 1. Analítica al comienzo del ingreso. Entre corchetes los valores de referencia del laboratorio, y con asterisco aquellos valores alterados.

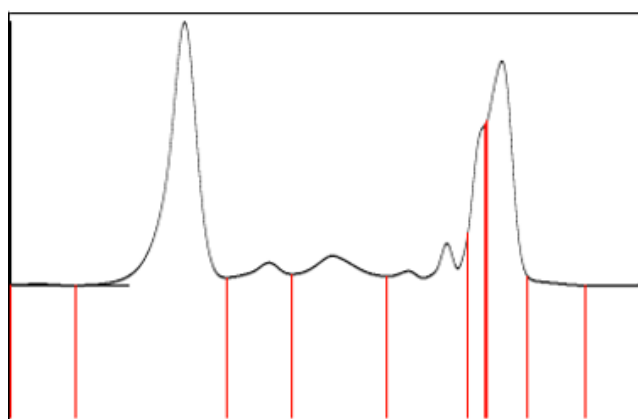


Figura 1. Electroforesis en suero. Se observa la presencia de banda monoclonal en gamma.

3. INFORME DEL LABORATORIO

En la analítica realizada al comienzo del ingreso (Tabla 1) destacaba, sobre todo, el deterioro de la función renal, ya conocido previamente, aunque con un leve deterioro respecto a las analíticas previas, así como una elevación importante de NT-proBNP y anemia macrocítica. En la siguiente analítica (Tabla 2) se objetivó un importante deterioro de la función renal respecto a la previa, así como una considerable proteinuria aparentemente no selectiva, así como un escaso rendimiento transfusional,

dado que la hemoglobina se mantenía en cifras similares a las previas. Días después, cuando se conoció el resultado de la electroforesis e inmunofijación en suero y orina (Tabla 2, Figura 1), se objetivó la presencia de banda monoclonal en IgG (2,08 g/dL) y en cadenas ligeras kappa (33,34 g/dL), con un índice Kappa/Lambda Libre 4976,29, por lo que, ante la sospecha de mieloma múltiple, se solicitó estudio de médula ósea.

4. DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES

Las patologías hematológicas relacionadas con las células plasmáticas son un grupo heterogéneo que incluye (Tabla 3):

- Gammapatía monoclonal de significado incierto: es una proliferación clonal asintomática y premaligna, que afecta al 1-2% de la población.
- Mieloma múltiple: se debe sospechar en caso de la presencia de anemia, hipercalcemia, insuficiencia renal, fracturas o lesiones óseas líticas, así como aumento de proteínas en suero o la presencia de una paraproteína monoclonal el suero u orina.
- Macroglobulinemia de Waldenström: es una neoplasia de células B (células linfoplasmocíticas y células plasmáticas) en médula ósea y otros tejidos, mucho menos frecuente que el mieloma múltiple.
- Amiloidosis de cadenas ligeras (amiloidosis AL): supone el depósito tisular de fibras de cadenas ligeras monoclonales, y puede presentarse de forma aislada o

BIOQUÍMICA URINARIA	EEF SUERO
Diuresis 2000 mL	Albúmina (EEF) 42.2 % [49.6 - 64.6] *
Aclaramiento de Creatinina 83.7 ml/min [71.0 - 151.0]	Alfa 1 4.5 % [3.6 - 8.0]
Creatinina (orina 24h) 183.78 mg/dL	Alfa 2 8.2 % [6.3 - 11.4]
Proteínas (orina 24h) 2.670 g/L [<= 0.060] *	Beta 17.5 % [5.9 - 14.3] *
Proteinuria 24 h. 5.34 g/24h [<= 0.14] *	Gamma 27.6 % [10.7 - 19.4] *
Albúmina (orina 24h) 6.9 mg/dL [0.3 - 2.0] *	Albúmina/Globulina 0.7 [1.2 - 1.9] *
Albuminuria 24 h. 137.7 mg/24h [<= 30.0] *	Banda M. en Beta-2 0.79 g/dL
Calcio (orina 24h) 1.4 mg/dL [6.8 - 21.0] *	Banda M. en Beta-2. % 10.0 %
Calcio en orina de 24 h 28 mg/24h [100 - 320] *	Banda M. en Gamma 2.08 g/dL
INMUNOGLOBULINAS	Banda M. en Gamma % 26.3 %
IgG 2110 mg/dL [700 - 1600] *	Comentario (EEF): Banda monoclonal
IgA <27.9 mg/dL [70 - 400]	INMUNOFIJACIÓN SUERO
IgM <18.8 mg/dL [40 - 230]	IgG: Banda monoclonal
CADENAS LIGERAS LIBRES	IgA: No se observan bandas
Kappa libre (suero) 33390.9 mg/L [3.3 - 19.4] *	IgM: No se observan bandas
Lambda libre (suero) 6.7 mg/L [5.7 - 26.3]	Kappa: Banda monoclonal
Índice Kappa/Lambda Libre 4976.29 [0.26 - 1.65] **	Lambda: No se observan bandas
	Informe Inmuno Fijacion: Paraproteína IgG Kappa.

Tabla 2. Analítica posterior, con estudio de proteínas en suero y orina.

asociada a una gammapatía monoclonal de significado incierto, mieloma múltiple o macroglobulinemia de Waldenström. Presenta afectación renal en un 70% de los casos (proteinuria asintomática, síndrome nefrótico) y cardíaca en un 60% (miocardiopatía restrictiva o arritmias).

- Síndrome POEMS: responde al acrónimo de polineuropatía, organomegalia, endocrinopatía, proteína monoclonal y cambios cutáneos, y uno de sus criterios diagnósticos obligatorios es la presencia de un trastorno monoclonal de células plasmáticas, sobre todo con restricción lambda.

Dados los datos clínicos y analíticos del paciente, los diagnósticos más probables en este caso eran mieloma múltiple y amiloidosis AL.

5. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

Durante el ingreso, el paciente presentó deterioro clínico y analítico (función renal), por lo que ante datos de bajo gasto, fracaso renal agudo e hipertensión pulmonar postcapilar con gradiente transpulmonar de 19 mmHg se decidió iniciar inotrópicos (dobutamina), reajustando el resto del tratamiento.

Se realizaron pruebas de imagen:

- Radiografía de tórax (al ingreso): cardiomegalia a expensas de ventrículo y aurícula derechos. Senos costofrénicos libres. Sin infiltrados (figura 2).
- Ecocardiografía transtorácica (al ingreso): disfunción sistólica del ventrículo izquierdo leve. Disfunción sistólica del ventrículo derecho. Dilatación del ventrículo derecho. Insuficiencia mitral e insuficiencia tricúspide severas.

Ante la importante afectación cardíaca, se planteó la posibilidad diagnóstica de amiloidosis AL, pero no se pudo realizar resonancia magnética cardíaca dada la inestabilidad del paciente y el deterioro de la función renal.

Se realizó aspirado de médula ósea:

- Citología: Médula ósea con infiltración masiva (80%) por células plasmáticas patológicas, diagnóstica de mieloma múltiple (figura 3).
- Citometría de flujo: infiltración de médula ósea por un 45% de células plasmáticas, el 100% de ellas con inmunofenotipo patológico (CD38+d, CD138+, CD45-, CD19-, CD56+, CD117+, CD27+d, CD81+d), compatible con mieloma múltiple.

- Citogenética: el estudio se realizó en células CD138, y quedó definido por la presencia de tres copias para 1q (85%), tres copias para el gen de ciclina D1 (80%) y delección de 13q (20%), así como un clon de baja incidencia con del(17p) en el 10%, teniendo valor pronóstico por encima del 20%, por lo que correspondería con un mieloma múltiple de riesgo estándar-alto.

6. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Gammapatía monoclonal de significado incierto
Requieren los 3 criterios siguientes: - Componente monoclonal (CM) (IgG, IgA o IgM) en suero < 3 g/dL. - Células plasmáticas (CP) clonales en médula ósea (MO) <10%. - Sin evidencia de daño orgánico atribuible a la neoplasia de CP (CRAB).
Mieloma múltiple
Requiere $\geq 10\%$ de CP clonales en MO o una biopsia diagnóstica de plasmocitoma (óseo o extramedular) y 1 o más de los siguientes criterios: Daño Orgánico Atribuible al Mieloma (CRAB): - Hipercalcemia: calcio sérico ≥ 1 mg/dL (≥ 0.25 mmol/L) del límite superior de la normalidad o ≥ 11 mg/dL (≥ 2.75 mmol/L). - Insuficiencia renal: aclaramiento de creatinina <40 mL/min y/o creatinina sérica ≥ 2 mg/dL (≥ 177 μmol/L). - Anemia: Hb <10 g/dL o >2 g/dL por debajo del límite inferior de la normalidad. - Lesiones óseas: una o más lesiones osteolíticas ≥ 5mm en TAC, PET-TAC o Rx convencional. Uno o más de estos marcadores (incluso en ausencia de CRAB): - CP clonales en MO $\geq 60\%$ - CLL en suero alterada: no alterada ≥ 100 (además la CLL alterada debe ser ≥ 100 mg/L). - Presencia de >1 lesión focal ≥ 5 mm en RMN
Mieloma múltiple indolente
Requiere los 2 siguientes criterios: - CM en suero (IgG or IgA) ≥ 3 g/dL y/o CM en orina ≥ 500 mg en 24 y/o CP en MO entre 10–60% - Sin evidencia de daño orgánico atribuible a la neoplasia de CP (CRAB) ni de amiloidosis
Macroglobulinemia de Waldenström
- Proteína monoclonal IgM en suero (en cualquier cantidad) - Afectación de médula ósea por un infiltrado intertrabecular en cualquier cantidad de linfocitos pequeños, formas linfoplasmocitoides y células plasmáticas - Las células linfocíticas expresan IgM de superficie, CD19, CD20 y CD22. Las células plasmocíticas expresan CD38 y CD138.
Amiloidosis AL
- Presencia de algún síndrome sistémico relacionado con amiloide - Tinción positiva rojo-Congo en cualquier tejido - Evidencia de que el amiloide se relaciona con cadenas ligeras con espectrometría o microscopía de electrones - Evidencia de trastorno monoclonal de células plasmáticas

Tabla 3. Criterios diagnósticos de las principales patologías relacionadas con células plasmáticas.



Figura 2. Radiografía de tórax al ingreso, en la que se observa cardiomegalia.

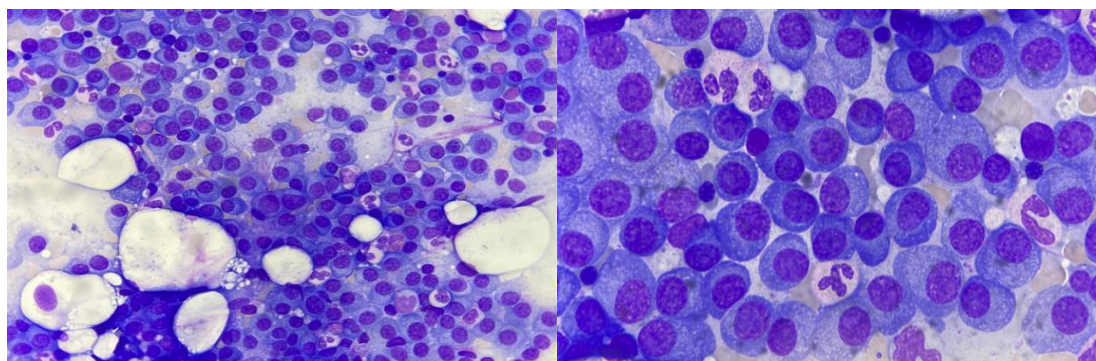


Figura 3. Extensión de médula ósea, en la que se observa infiltración por células plasmáticas patológicas (pérdida de cromatina en rueda de carro, anisocitosis, algunas células binucleadas).

El diagnóstico definitivo fue mieloma múltiple de cadenas ligeras kappa, ISS-III, ISS-R-III, cumpliendo criterios diagnósticos: más de 60% de células plasmáticas clonales en médula ósea, insuficiencia renal y anemia.

7. EVOLUCIÓN

Ante el diagnóstico de mieloma múltiple, se decidió iniciar tratamiento inicialmente con bortezomib y dexametasona, sin poder emplear al comienzo del tratamiento lenalidomida dado el deterioro de la función renal, aunque se pudo introducir dos semanas después. Durante los primeros días de tratamiento, el paciente mantuvo su inestabilidad, presentando prácticamente una situación de anasarca y oligoanuria, precisando además de inotrópicos por parte de Cardiología, con uso de hemofiltro (con filtro High cut-off para intentar depuración de cadenas ligeras) con seguimiento por Nefrología. Durante el ingreso presentó otras complicaciones como síndrome febril (sin aislamientos microbiológicos, por lo que recibió antibioterapia de amplio espectro) o heces melénicas (hemorragia digestiva alta autolimitada, sin inestabilidad hemodinámica y con escasa repercusión analítica). Al alta presentaba recuperación completa de su función renal. Se realizó de forma ambulatoria la resonancia magnética cardíaca, que como conclusión mostraba

hallazgos compatibles con miocardiopatía dilatada que no sugiere etiología infiltrativa.

Tras tres ciclos de tratamiento, el paciente presentaba muy buena respuesta parcial y, dada su comorbilidad cardíaca, el

paciente está en seguimiento con Cardiología para plantear un posible trasplante cardíaco si obtiene remisión completa de su mieloma, no siendo candidato a trasplante autólogo de médula ósea por esta comorbilidad. Tras presentar el caso en el Comité de Mieloma Múltiple y Gammopatías Monoclonales, se decidió añadir al esquema de tratamiento (bortezomib, lenalidomida, dexametasona) tratamiento con daratumumab, un fármaco anti-CD38.

Tras recibir un total de 8 ciclos (el primero con bortezomib y dexametasona, añadiendo lenalidomida desde el 2º ciclo y daratumumab desde el 4º ciclo) y, ante la anemización del paciente, se decidió retirar bortezomib, manteniendo los otros tres fármacos, recibiendo hasta el momento un total de 11 ciclos de tratamiento, actualmente está con enfermedad estable (presentando en la última analítica cadenas ligeras kappa libres 86,4 mg/l; lambda libre 6 mg/l; y dos bandas monoclonales en gamma de 0,11 g/dl y 0,10 g/dl).

8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

El mieloma múltiple es una neoplasia que se caracteriza por la proliferación de células plasmáticas que producen una inmunoglobulina monoclonal. Estas células proliferan en la médula ósea y pueden producir destrucción ósea, con osteopenia, lesiones osteolíticas o fracturas patológicas. En España se diagnostican entre 2.500 y 3.000 casos al año.

Al diagnóstico es necesaria la realización de hemograma y frotis de sangre periférica y bioquímica.

El análisis de la presencia de componente monoclonal en suero se realiza tradicionalmente empleando técnicas electroforéticas, con pruebas adicionales para cuantificación de la proteína y para determinar si la proteína es monoclonal.

- Electroforesis de proteínas en suero: es un procedimiento barato, fácil, habitualmente realizado en gel de agarosa; se puede cuantificar la proteína empleando un trazado del densitómetro del gel. También se puede realizar mediante electroforesis capilar de zona. Mediante estas técnicas, las proteínas se clasifican en cinco regiones: albúmina, alfa-1, alfa-2, beta y gamma (en esta última se encuentran las inmunoglobulinas habitualmente, aunque también podrían localizarse en beta-gamma, beta o incluso en alfa-2. Ante la sospecha de gammapatía monoclonal, se debe realizar inmunofijación. Es importante tener en cuenta que algunos anticuerpos monoclonales empleados en el tratamiento del mieloma múltiple, como el daratumumab, son anticuerpos monoclonales humanos IgG kappa, detectables mediante esta técnica (se ha desarrollado alguna prueba de electroforesis con inmunofijación específica que permite la diferenciación entre la IgG de daratumumab y la IgG nativa).
- Inmunofijación en suero: es fundamental para diferenciar si las inmunoglobulinas son monoclonales o policlonales. En la inmunofijación tradicional, el suero del paciente se pone en cinco bandas y tras la separación de las proteínas séricas, en cada muestra se emplea un anticuerpo monoespecífico (tres con cadenas pesadas y dos con cadenas ligeras); se permite la precipitación de proteínas (complejo antígeno-anticuerpo), seguido del lavado de las proteínas no precipitadas y seguido de la tinción del inmunoprecipitado que queda. La inmunosustracción es un procedimiento alternativo; se realiza electroforesis capilar antes y después de incubar la muestra con bolas de sefarosa recubiertas con anticuerpos; los cambios resultantes en el patrón electroforético permiten la identificación del componente monoclonal.
- Cadenas ligeras libres en suero: es una prueba basada en anticuerpos para detectar bajas concentraciones de cadenas ligeras libres monoclonales (kappa o lambda), útil en aquellos pacientes con mieloma múltiple que sólo produce proteína de Bence-Jones, ya que en ocasiones las técnicas rutinarias de inmunofijación no detectan la proteína de Bence-Jones si está presente en pequeñas cantidades, lo que puede retrasar el diagnóstico; además en pacientes con mieloma de cadenas ligeras, las proteínas totales en suero pueden ser normales o

incluso bajas (a menudo los niveles de cadenas pesadas de inmunoglobulinas están suprimidas).

- Espectrometría de masas: es un método cuyo uso aún no está generalizado que emplea la medida de masa molecular de alta resolución para identificar y clasificar la proteína monoclonal en el suero. Podría ser el sustituto natural de la inmunofijación, y es un método capaz de distinguir entre la proteína monoclonal endógena y anticuerpos monoclonales terapéuticos¹.
- Electroforesis de proteínas en orina de 24 horas: es el método análogo a la electroforesis en suero.
- Inmunofijación en orina: el método análogo a la inmunofijación en suero.

Al diagnóstico es necesario realizar una prueba de imagen (TAC de cuerpo entero de baja dosis, PET-TC, RMN de cuerpo entero o de columna y pelvis, serie ósea), así como estudio de médula ósea incluyendo inmunofenotipo y FISH (realizando estudio de del (17/17p), t(4;14), t(11;14), t(14;16), +1q, 1p).

En aquellos pacientes candidatos a trasplante, el esquema habitual consta de inducción (con inhibidor del proteasoma - el más empleado es bortezomib-, un inmunomodulador -el más empleado es lenalidomida- y corticoide), seguido de trasplante acondicionado con melfalán.

En el caso de este paciente, no candidato a trasplante por su cardiopatía severa, se decidió iniciar tratamiento con bortezomib y dexametasona, sin la posibilidad de añadir lenalidomida inicialmente por el deterioro de la función renal. Aunque es una combinación todavía no financiada en pacientes no candidatos a trasplante, sí aparece como una de las opciones a valorar en pacientes considerados "fit", planteando la posibilidad de continuar con lenalidomida de mantenimiento tras 9 ciclos de la triple combinación².

Respecto al seguimiento de la respuesta de la enfermedad, los resultados obtenidos al diagnóstico definen qué pruebas hay que realizar en las reevaluaciones.

BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. Durie BGM, Hoering A, Abidi MH, Rajkumar SV, Epstein J, Kahanic SP, et al. Bortezomib with lenalidomide and dexamethasone versus lenalidomide and dexamethasone alone in patients with newly diagnosed myeloma without intent for immediate autologous stem-cell transplant (SWOG S0777): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet*. 2017;389(10068):519-27.
2. Zajec M, Jacobs JFM, Groenen PJTA, de Kat Angelino CM, Stingl C, et al. Development of a targeted mass-spectrometry serum assay to quantify M-protein in the presence of therapeutic monoclonal antibodies. *J Proteome Res*. 2018;17(3):1326.

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Aguilar C, Báñez A, Dávila J, Escalante F, García A, et al. Grupo de Estudio de Gammopatías Monoclonales de Castilla y León. Guía de Mieloma de Castilla y León. 4ª edición. Valladolid; 2020.

- Castillo JJ. Plasma Cell Disorders. Prim Care. 2016;43(4):677-691.
- De la Rubia J, Mateos MV, Bladé J, Lahuerta JJ, San Miguel J. Grupo Español de Mieloma. Guía de Mieloma Múltiple. 1ª edición. Madrid; 2021.
- Laubach JP. Multiple myeloma: Clinical features, laboratory manifestations, and diagnosis. En: UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA (acceso el 12 de septiembre de 2021).
- McKenna RW, Kyle RA, Kuehl WM, Harris NL, Coupland EW, Fend F. Plasma Neoplasms. En: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon: IARC; 2017. p. 241-58.
- Rajkumar SV. Laboratory methods for analyzing monoclonal proteins. En: UpToDate, Post TW (Ed), UpToDate, Waltham, MA (acceso el 12 de septiembre de 2021).

15-PANCITOPENIA EN PACIENTE CON ANTECEDENTE DE ADENOCARCINOMA DE SIGMA

Autores: Rafael Colmenares Gil, Sandra Gómez Rojas.

Servicio de Hematología y Hemoterapia, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Palabras clave: Pancitopenia, Síndromes mielodisplásicos, Biología molecular

1. INTRODUCCIÓN

La pancitopenia es un motivo frecuente de consulta al servicio de Hematología, y su etiología es diversa. La causa puede ser periférica (en general, relacionada con hipersplenismo, infecciones y enfermedades autoinmunes) o central (infiltración medular, mielofibrosis, aplasia, síndromes mielodisplásicos o estados carenciales). Además de una detallada historia clínica y exploración física, resulta importante realizar un abordaje a través de pruebas analíticas básicas (sobre todo hemograma y bioquímica) y pruebas más especializadas, en las que tiene un papel fundamental la extensión de sangre periférica y el estudio de médula ósea (a través de la citomorfología, la citometría de flujo, la citogenética, la biología molecular y la anatomía patológica).

2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

2.1 Motivo de consulta:

Se trata de un varón de 83 años que acude a Urgencias por astenia.

2.2 Antecedentes personales:

Entre los antecedentes personales destacan:

- Hipertensión arterial, hipercolesterolemia en tratamiento farmacológico, no diabetes mellitus. Obesidad.
- Ulcus duodenal, con hemorragia digestiva alta, en relación a consumo por AINEs.
- Neoplasia de sigma, diagnosticada en 2015, pT4N2M1, tratada con cirugía, con quimioterapia coadyuvante (12 ciclos). En 2016 precisó lingüectomía por metástasis pulmonar, así como segmentectomía atípica por nódulo fibrótico.
- Queratosis actínicas, en tratamiento con crioterapia.

2.3 Antecedentes familiares:

El paciente tiene madre y hermano diagnosticados de leucemia (sin especificar más datos) a los 56 y 40 años, respectivamente, y un hermano diagnosticado de adenocarcinoma de colon a los 80 años.

2.4 Enfermedad actual:

El paciente acudió a su médico de Atención Primaria por presentar astenia de 15 días de evolución, sin fiebre, ni sudoración nocturna sin pérdida de apetito, aunque con leve pérdida de peso en los últimos meses que no sabe cuantificar. No presentaba dolor a ningún nivel. No había introducido nueva medicación recientemente. No presentaba

sangrados espontáneos. El médico de Atención Primaria solicitó una analítica en la que se objetivaba pancitopenia.

2.5 Exploración física:

A la exploración, el paciente estaba estable hemodinámicamente (tensión arterial 157/45 mmHg, frecuencia cardíaca 90 lpm, saturación basal de oxígeno 98%, temperatura 36,2 °C), con buen estado general, eupneico, normoperfundido y normohidratado pero con palidez mucocutánea. No presentaba adenopatías cervicales, supraclaviculares, axilares o inguinales. La auscultación cardíaca era rítmica, sin soplos, y a la auscultación pulmonar presentaba murmullo vesicular conservado sin ruidos sobreañadidos. No hubo hallazgos en la exploración abdominal y el paciente no presentaba edemas ni signos de trombosis venosa profunda.

3. INFORME DEL LABORATORIO

En la analítica destacaba pancitopenia (con una hemoglobina de 8,6 g/dL, 34.000 plaquetas/ μ L y 0 neutrófilos/ μ L); la función renal y el perfil hepático estaban dentro de la normalidad, incluyendo la LDH (196 U/L), y sin elevación de reactantes de fase aguda (Proteína C Reactiva 0,24 mg/dL). No presentaba alteraciones en la coagulación. En el frotis de sangre periférica presentaba rasgos de diseritropoyesis (Tabla 1) (Figura 1).

4. DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES

La etiología de la pancitopenia es diversa:

- Mecanismo periférico:
 - Hipersplenismo.
 - Infecciones: sepsis, fiebre tifoidea, legionelosis, fiebre Q, virus.
 - Autoinmunes: conectivopatías (lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide).
- Mecanismo central:
 - Enfermedad medular primaria: leucemia aguda, síndromes mielodisplásicos, mieloma múltiple, anemia megaloblástica grave, síndrome hemofagocítico, hemoglobinuria paroxística nocturna, mielofibrosis, necrosis medular, osteopetrosis.
 - Infiltración medular: sarcoidosis, infecciones, linfomas, metástasis de tumores sólidos.

FROTIS EN SANGRE PERIFÉRICA:

Segmentados 12 %, Linfocitos 84 %, Eosinófilos 3 %, Blastos 1 %, Normoblastos 1 n/100 Leu.

Serie roja: Anisopoiquilocitosis con hipocromía y predominio de eliptocitos y dacriocitos. <1 esquistocito/campo. 1 eritroblasto por cada 100 células nucleadas. Eritroblastos con defectos de hemoglobinización. Serie blanca: Leucopenia confirmada, con algunos neutrófilos hipogranulados y otros con refuerzo de la granulación, bien segmentados. Linfocitos polimorfos, algunos de aspecto activado. Se observa un 1% de blastos de hábito mieloide. Serie plaquetar: Anisotrombia con algunas plaquetas de gran tamaño e hipogranuladas. No se observan agregados.

Conclusión: Pancitopenia confirmada. Rasgos de diseritropoyesis sin poder descartar componente carencial. Sugestivo de síndrome mielodisplásico, sin poder descartar infiltración medular por tumor sólido. Se recomienda solicitar estudio de médula ósea.

Tabla 1. Principales hallazgos en frotis de sangre periférica.

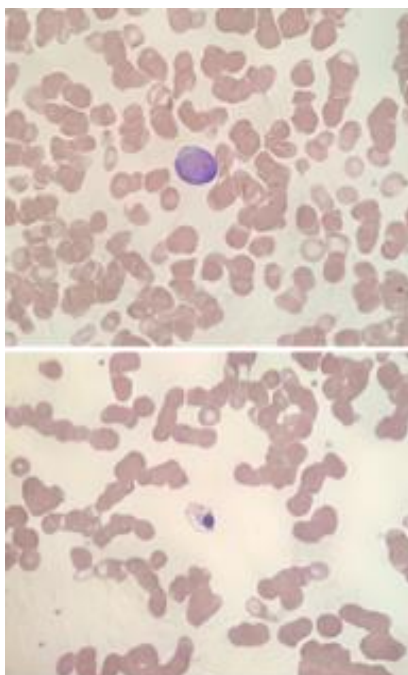


Figura 1. Extensión de sangre periférica. En la imagen superior izquierda se observa un blasto de mediano tamaño, mieloide. En imagen inferior se observa un eritroblasto ortocromático con defectos de hemoglobinización.

- Aplasia medular.
- Otros: alcohol, desnutrición.

En este paciente, teniendo en cuenta sus antecedentes personales, las alteraciones analíticas y las alteraciones morfológicas objetivadas en el frotis de sangre periférica, los diagnósticos más probables eran dos: síndrome mielodisplásico o infiltración de la médula ósea por un tumor sólido.

5. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

Durante el ingreso, el paciente presentó PCR positiva para SARS-CoV-2 (aunque con un Ct > 35). No se objetivó neumonía durante el ingreso. Se realizó además TC de tórax-abdomen-pelvis, objetivándose nódulos pulmonares puntiformes subpleurales inespecíficos en la pirámide basal del LID que no se apreciaban en TAC previa de octubre de

2020, placa de ateroma calcificadas en aorta abdominal y vasos ilíacos.

5.1 Estudio de médula ósea:

Se realizó aspirado y biopsia de médula ósea.

– Citología:

Médula ósea hipercelular, con grasa disminuida. Formas hipolobuladas y monolobuladas. Megacariocitos asincrónicos (núcleo maduro, citoplasma hialino, núcleos dispersos).

Serie blanca (28%) con rasgos de disgranulopoyesis en el 48% de los elementos. Alteraciones de segmentación nuclear (pseudo-pelguer) hiposegmentación e hipogranulación. Condensación cromatínica anormal. Monocitos (1%). Linfocitos (4%) de aspecto maduro.

Serie eritroide (57%) de predominio poliortocromático con rasgos displásicos significativos, asincronismo madurativo, cromatina perlada, núcleo irregular, elementos binucleados.

Blastos (9%): de mediano tamaño, agranulares, cromatina laxa, presencia de nucléolo visible, citoplasma basófilo.

Células plasmáticas (2%) sin atipias. Sideroblastos tipo 1: 45%. Sideroblastos tipo 2: 5 %. Sideroblastos en anillo: 1%.

Compatible con síndrome mielodisplásico con displasia multilínea y exceso de blastos tipo 1 (9%). (Figura 2).

– Citogenética:

Se objetivó cariotipo derivativo obtenido de todas las alteraciones en al menos tres metafases: 45-56, XY, +1,

del(5q), +6, dic(7;17)(q?;p12), -7, +8, +8, +9, +9, +11, -13, -15, +18, +20, +21, +22[cp20]. Como marcadores de significado clínico incluye: deleción 5q [90%] y monosomía 5 [10%], del(7q) [50%] y monosomía 7 [10%], del(17p)/gen TP53[70%] y trisomía y tetrasomía de cromosoma 8. Por FISH se confirmó la deleción de 17p/TP53[70%]. (Figura 3).

5.2 Biología Molecular:

No se detectaron mutaciones de IDH1, IDH2 ni DNMT3A (estudio inicial que se realiza en pacientes con síndrome mielodisplásico). Se realizó estudio de NGS (panel mieloide),

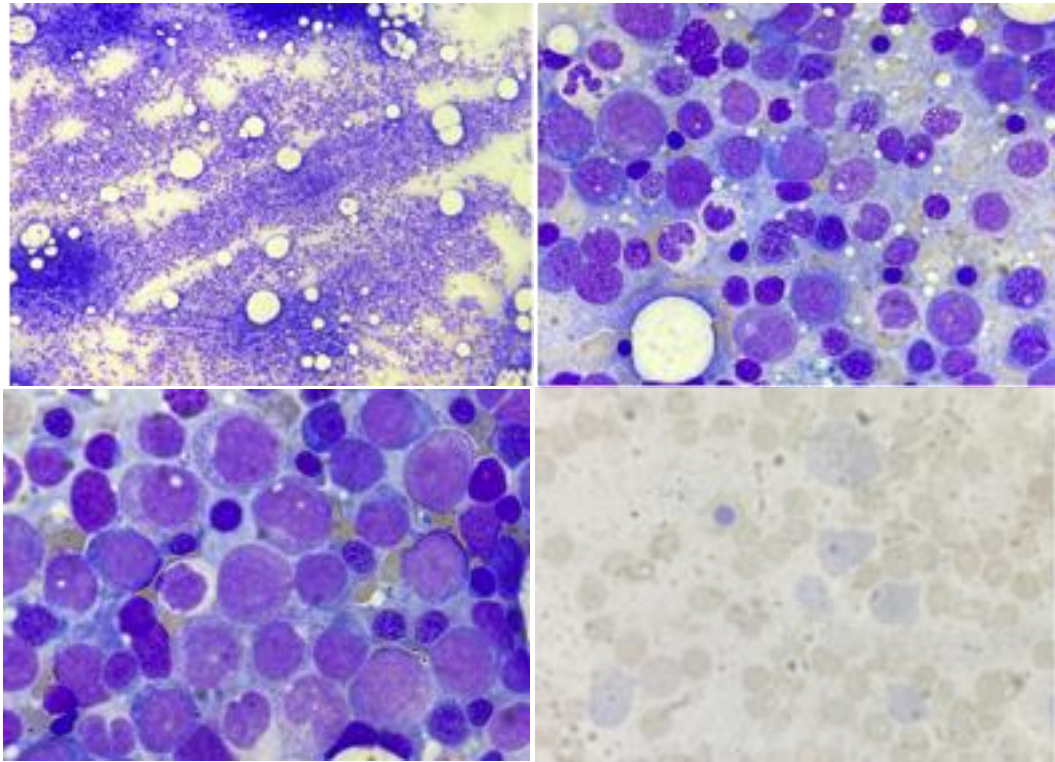


Figura 2. Extensión de médula ósea. Las tres primeras imágenes corresponden a la tinción May-Grünwald Giemsa, observándose una médula ósea hipercelular para la edad del paciente, con displasia en las tres series y algunas células blásticas. La última imagen corresponde a la tinción de Perls, realizada para descartar la presencia de sideroblastos en anillo.

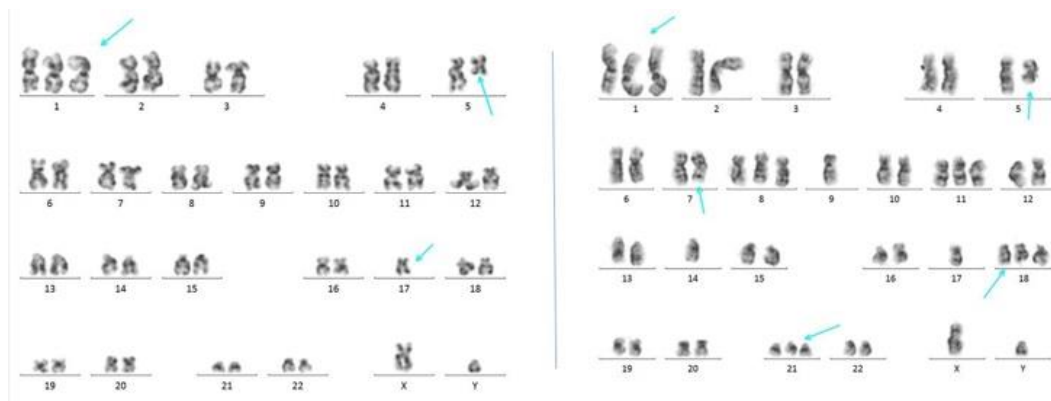


Figura 3. Cariotipo del paciente. Se observa la representación del cariotipo de dos metafases. Servicio de Genética, Hospital 12 de Octubre.

detectándose mutaciones en los genes TP53, TET2 y CSF3R:

- Gen TP53. Frecuencia alélica 30.17%. Se detecta una variante descrita en tumores del tracto urinario, de mama y digestivos. Deletérea para la proteína. De características patogénica.
- Gen TP53. Frecuencia alélica 69.57%. Se detecta una variante descrita en síndromes mielodisplásicos, leucemia mieloide aguda y tumores digestivos. Deletéreo para la proteína. De características patogénica.
- Gen TET2. Frecuencia alélica 20.45%. Se detecta una variante no descrita previamente en bases de datos de pacientes con cáncer o en bases de datos poblacionales. De significado probablemente patogénico.
- Gen CSF3R. Frecuencia alélica 59.16%. Se una variante descrita en leucemia mielomonocítica crónica. Presente en bases poblacionales con una frecuencia de 0.6%. No deletérea en la mayoría de los predictores. De significado incierto vs probablemente benigna.

Se han detectado variantes patogénicas y probablemente patogénicas que apoyan el diagnóstico de SMD, si se cumplen otros criterios. La presencia de las variantes patogénicas en TP53 confiere pronóstico adverso en SMD.

5.3 Anatomía Patológica:

- Cilindro de médula ósea con tres grandes espacios medulares y una celularidad del 70%. Las tres líneas hematopoyéticas están presentes. Los precursores granulocíticos están marcadamente desviados a la izquierda, observándose aislados elementos segmentados. Los precursores eritroides también están desviados a la izquierda, y muestran irregularidades nucleares y se observan formas terminales. Los megacariocitos son predominantemente de pequeño tamaño, monolobulados y se observan micromegacariocitos. Se observan ocasionales pequeños linfocitos dispersos y células plasmáticas de

aspecto maduro dispersas. La tinción de plata no revela fibrosis reticulínica significativa (grado 0 sobre 3).

- Estudio inmunohistoquímico: Los precursores granulocíticos expresan CD15 y mieloperoxidasa y los precursores eritroides CD71, siendo la relación mielo-eritroide de 1/1. El factor VIII marca los megacariocitos. El CD34 pone en evidencia un exceso de blastos (aproximadamente 9%).
- Diagnóstico anatomopatológico. Bi
- opsia osteomedular: médula ósea hiper celular, trilineal con mielodisplasia con exceso de blastos.

6. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Síndrome mielodisplásico con exceso de blastos, de muy alto riesgo según el índice IPSS-R (Tabla 2) (8,5 puntos: grupo de riesgo citogenético muy pobre, 5-10% de blastos en médula ósea, 8-9,9 g/dl de hemoglobina, $<50 \times 10^9/L$ plaquetas, $<0,8 \times 10^9/L$ neutrófilos).

7. EVOLUCIÓN

Ante el diagnóstico de síndrome mielodisplásico con exceso de blastos de muy alto riesgo, y dada la excelente situación basal del paciente, se decide iniciar tratamiento con azacitidina (37,5 mg/m² 5 días), presentando a día +14 del inicio del ciclo un episodio de neutropenia febril por lo que acudió a urgencias y precisó ingreso hospitalario para vigilancia clínica y administración de antibioterapia intravenosa inicialmente con meropenem, sin aislamientos microbiológicos ni clara focalidad, por lo que tras 5 días de ingreso se procedió a alta a domicilio con tratamiento antibiótico oral con amoxicilina/ácido clavulánico y ciprofloxacino.

Por el momento se ha decidido iniciar otro ciclo de azacitidina.

Características	0 puntos	0,5 puntos	1 punto	1,5 puntos	2 puntos	3 puntos	4 puntos
Grupo de riesgo citogenético	Muy bueno		Bueno		Intermedio	Pobre	Muy pobre
Blastos MO, %	0 – 2		34,9		5 – 10	>10	
Hemoglobina, g/dL	≥ 10		8 – 9,9	<8			
Plaquetas, $\times 10^6/L$	≥ 100	50 – 99	>50				
PMN, $10^6/L$	$\geq 0,8$	>0,8					

Grupo de riesgo: Muy bajo: 0 – 1,5 puntos; Bajo: >1,5 – 3 puntos; Intermedio: >3 – 4,5 puntos; Alto: <4,5 – 6 puntos; Muy alto: >6 puntos

Tabla 2. Índice pronóstico IPSS-R. Es el más empleado actualmente en síndromes mielodisplásicos. Tomado y modificado de Greenberg et al¹.

8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

Los síndromes mielodisplásicos son un conjunto heterogéneo de enfermedades clonales de la médula ósea que se caracterizan por presentar hematopoyesis ineficaz (en la mayoría de los casos con una médula ósea normocelular o hipercelular), citopenias y alteraciones morfológicas celulares (mielodisplasia). El riesgo que presenta esta enfermedad es la evolución a leucemia mieloide aguda.

Los requisitos para el diagnóstico de un síndrome mielodisplásico son la presencia de una citopenia constante (6 meses) en una o más de las líneas siguientes: eritroide, neutrofílica o plaquetar (a excepción de la presencia de un exceso de blastos y anomalías citogenéticas relacionadas con SMD que por sí son diagnósticas de SMD), así como la exclusión de enfermedades hematológicas y no hematológicas como causa de citopenia/displasia.

Para su diagnóstico es imprescindible la realización de un estudio de médula ósea, con un estudio morfológico con tinción panóptica tipo May-Grünwald Giemsa que incluya el recuento de al menos 500 células, evaluando posibles dismorfias en al menos 200 eritroblastos, 200 elementos maduros de la serie granulocítica neutrófila y 30 megacariocitos, así como la tinción de Perls para valorar los depósitos de hierro medular y realizar el recuento porcentual de sideroblastos.

La realización de estudio citogenético convencional es imprescindible en el estudio inicial y necesario para establecer el pronóstico individual y planificar el tratamiento, evaluando al menos 20 metafases, considerándose que la presencia de una citopenia inexplicable junto a una alteración citogenética recurrente de SMD (excepto +8, del(20q), -Y) es suficiente para el diagnóstico de síndrome mielodisplásico. En caso de no obtener metafases o si estas son de mala calidad, se debería plantar la realización de FISH para detección de 5q y 7q2.

Respecto a los estudios moleculares, son muchas las mutaciones somáticas descritas en pacientes con síndromes mielodisplásicos: el 70% tienen mutación en los genes de maquinaria de splicing o en los reguladores epigenéticos. Los genes más frecuentemente mutados son SF3B1, TET2, SRSF2, DNMT3A, RUNX1, con una mediana de 2 mutaciones por paciente; también se pueden encontrar mutaciones en personas sanas sin hemopatía asociada (hematopoyesis clonal asociada a la edad). La presencia de una citopenia y la detección de una mutación con VAF $\geq 10\%$ o de 2 mutaciones es altamente sugestiva de SMD, sin que sea decisiva para establecer el diagnóstico si no existen otras características consistentes de SMD^{3,4}.

Hasta el momento las clasificaciones de estratificación pronóstica de SMD no tienen en cuenta los estudios moleculares (la más empleada, IPSS-R, tiene en cuenta el grupo de riesgo citogenético, el porcentaje de blastos en médula ósea y los niveles de hemoglobina, plaquetas y neutrófilos en sangre periférica), aunque se ha visto que las mutaciones en TP53 confieren pronóstico desfavorable, incluso en aquellos pacientes que ya presentaban cariotipo complejo; se ha asociado la mutación en este gen con menor supervivencia y mayor riesgo de recaída post-trasplante, por

lo que algunos grupos de investigación han propuesto índices pronósticos que tienen en cuenta los datos obtenidos en los estudios moleculares.

En este caso llama la atención tanto las alteraciones encontradas en el estudio genético como las alteraciones encontradas en el estudio molecular, sobre todo en la mutación TP53, ambas con alta probabilidad somáticas y no germinales (puesto que no se aproximan a una frecuencia alélica del 50% o 100%), ya que una de ellas se ha descrito previamente en tumores sólidos (del tracto urinario, de mama o digestivo, como es el tumor que había tenido previamente este paciente y del que no hay en el momento actual signos de recidiva) y otra se ha descrito tanto en tumores digestivos como en neoplasias hematológicas (síndromes mielodisplásicos y leucemia mieloide aguda).

Los síndromes mielodisplásicos secundarios a tratamiento con quimioterapia y/o radioterapia presentan un peor pronóstico respecto a los síndromes mielodisplásicos primarios; por el momento no hay datos concluyentes pero se recomienda emplear los mismos índices pronósticos en ambos tipos y, de hecho, alguna serie ya ha demostrado que en estos casos también existe un peor pronóstico en aquellos pacientes que presentan anomalías citogenéticas de alto riesgo, citopenias, dependencia transfusional y exceso de blastos⁵.

En los pacientes con SMD de alto riesgo, como es este caso, el objetivo del tratamiento es intentar modificar la historia natural de la enfermedad, prolongando la supervivencia global y reduciendo el riesgo de evolución a leucemia mieloide aguda, ofreciendo el mejor tratamiento de soporte disponible y manteniendo la mayor calidad de vida posible. Los agentes hipometilantes han demostrado gran eficacia en síndromes mielodisplásicos y el más empleado es la azacitidina, que demostró en dos ensayos clínicos aleatorizados ser superior al tratamiento convencional^{6,7} y su toxicidad más frecuente es hematológica (neutropenia y trombocitopenia); en nuestro país está autorizada para el tratamiento de pacientes con SMD de alto riesgo no candidatos a trasplante alogénico (como es este caso, por la edad).

BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. Greenberg PL, Tuechler H, Schanz J, Sanz G, García-Manero, G, Solé F, et al. Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood*. 2012;120:2454-65.
2. Cazzola M, Della Porta MG, Malcovati L. The genetic basis of myelodysplasia and its clinical relevance. *Blood*. 2013;122:4021-34.
3. Duncavage EJ, Jacoby MA, Chang GS, Miller CA, Edwin N, Shao J, et al. Mutation Clearance after Transplantation for Myelodysplastic Syndrome. *N Engl J Med*. 2018;379:1028-41.
4. Caballero JC, Sánchez Barba M, Hernández Sánchez JM, Such E, Janusz K, Sanz G, et al. Chronic graft-versus-host disease could ameliorate the impact of adverse somatic mutations in patients with

myelodysplastic syndromes and hematopoietic stem cell transplantation. *Ann Hematol.* 2019;98:2151-62.

5. Quintas-Cardama A, Daver N, Kim H, Dinardo C, Jabbour E, Kadia T, et al. A prognostic model of therapy-related myelodysplastic syndrome for predicting survival and transformation to acute myeloid leukemia. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2014;14:401-10.
6. Fenaux P, Mufti GJ, Hellstrom-Lindberg E, Santini V, Finelli C, Giagounidis A, et al. Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher risk myelodysplastic syndromes: a randomised, open-label, phase III study. *Lancet Oncol.* 2009;10:223-32.
7. Silverman LR, Demakos EP, Peterson BL, Kornblith AB, Holland JC, Odchimar-Reissig R, et al. Randomized controlled trial of azacitidine in patients with the myelodysplastic syndrome a study of the cancer and leukemia group B. *J Clin Oncol.* 2002;20:2429-40.

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Carreño Gómez-Tarragona G, Mancheño Losa M. Trombocitopenia. Trombocitosis. Pancitopenia. Manual de Diagnóstico y Terapéutica Médica. 8ª edición. Madrid. Hospital Universitario 12 de Octubre: 2017. 1343-62.
- Grupo Español de Síndromes Mielodisplásicos. Guías españolas de SMD y LMMC. Edición 2020. Barcelona: GESMD; 2020.
- Hasserjian RP, Orazi A, Brunning RD, Germing U, Le Beau MM, Porwit A, et al. Myelodysplastic syndromes: Overview. En: Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon: IARC; 2017. p. 98-106.

16-TUBERCULOSIS PULMONAR Y TROMBOCITOPENIA INMUNE ASOCIADA

Autores: Rodrigo Gil Manso, Gloria María Pérez Segura

Servicio de Hematología y Hemoterapia, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Palabras clave: Tuberculosis, PTI, Trombocitopenia

1. INTRODUCCIÓN

La tuberculosis, causada por *Mycobacterium tuberculosis complex*, es una de las enfermedades infecciosas más relevantes en la historia de la humanidad, siendo aún hoy una de las principales causas de mortalidad por causa infecciosa, particularmente en regiones en vías de desarrollo. Actualmente, en países desarrollados como España, la tuberculosis sigue presentando gran importancia, fundamentalmente en población inmigrante y pacientes inmunodeprimidos (por enfermedades oncohematológicas, autoinmunes, virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), corticoterapia crónica, etc.), en quienes el riesgo de reactivación de la infección latente se encuentra marcadamente incrementado.

La trombocitopenia inmune es uno de los trastornos plaquetarios más relevantes de la hematología, dada su frecuencia y morbilidad asociadas. Aunque hasta un 75% de los casos son primarios, es decir, no logra identificarse una causa secundaria, en el otro 25% restante pueden detectarse causas secundarias de esta trombocitopenia, destacando las infecciones (VIH, hepatitis virales...), procesos autoinmunes sistémicos y neoplasias tanto sólidas como hematológicas. Estas formas secundarias suelen asociar más frecuentemente refractariedad o respuesta incompleta tras los tratamientos de primera línea y mejorar con terapias dirigidas a la causa primaria.

A continuación exponemos un caso clínico de trombocitopenia inmune secundaria a tuberculosis pulmonar, asociación muy infrecuente pero descrita en la literatura, atendido en el Servicio de Urgencias del Hospital Universitario 12 de Octubre.

2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

2.3 Motivo de consulta:

Hemoptisis.

2.4 Antecedentes personales:

Fumador con índice paquete-año de 20.

Estudiado hace 9 años tras contacto con un compañero de trabajo (trabaja en la limpieza de alcantarillado) diagnosticado de tuberculosis pulmonar, con Mantoux de 0 cm.

2.5 Antecedentes familiares:

Niega.

2.6 Enfermedad actual:

Se trata de un varón de 37 años con los antecedentes descritos que acude a urgencias por un episodio de esputos hemoptoicos de escasa cuantía de desarrollo en las últimas 24 horas. El paciente refiere un cuadro de 3 meses de tos seca sin respuesta a tratamiento sintomático, con agudización en los 10 días previos a la consulta, sumándosele dolor de tipo pleurítico en hemitórax superior derecho, picos febriles de hasta 38,2°C sintomáticos y sudoración nocturna. No asocia pérdida de peso, astenia ni anorexia y niega episodios previos de hemoptisis ni otras formas de sangrado.

2.7 Exploración física:

El paciente presenta un buen estado general, encontrándose bien hidratado y nutrido. Se encuentra febril, hemodinámicamente estable y eupneico en reposo. La exploración física es anodina incluyendo la auscultación cardiopulmonar. A la exploración de piel y mucosas llama la atención la presencia de múltiples petequias, sobre todo en miembros inferiores y en paladar blando (Figura 1). No se palpan adenopatías en ningún territorio.

3. INFORME DEL LABORATORIO

Análiticamente presenta un hemograma con anemia normocrómica-normocítica así como una trombopenia severa de 5.000 plaquetas/ μ L. Las analíticas previas eran normales, con cifras de plaquetas dentro de la normalidad. El resto del estudio analítico era anodino salvo por una elevación de reactantes de fase aguda y de las enzimas de colestasis (Tabla 1).

Ante la detección de la trombopenia, se procedió a realizar una extensión de sangre periférica en la que se confirmaba dicho hallazgo, sin encontrarse otras alteraciones morfológicas relevantes (Figura 2).

4. DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES

Nos encontramos por tanto ante un paciente sin antecedentes relevantes y con un cuadro clínico y radiológicamente compatible con tuberculosis pulmonar activa. Por otra parte, si bien la mayoría de alteraciones de laboratorio son congruentes con un proceso infeccioso-inflamatorio, no lo es la grave trombopenia, la cual incrementa el riesgo hemorrágico aún más en un paciente que ya ha presentado sangrado de la lesión pulmonar.

HEMOGRAMA				
Hemoglobina: 11,8 g/dl	VCM: 82,3 fl	HCM: 27,2 pg	CHCM: 33,1 g/dl	ADE: 14,3%
Plaquetas: 5.000/μl	Leucocitos: 14.400/μl	Neutrófilos (%): 11.100/μl (77,2%)	Linfocitos (%): 1.900/μl (13,0%)	Monocitos (%): 1.100/μl (7,6%)
Eosinófilos (%): 200/ul (1,6%)	Basófilos (%): 100/ul (0,6%)			
BIOQUÍMICA				
Glucosa: 106 mg/dl	Creatinina: 0,83 mg/dl	Sodio: 138 mEq/l	Potasio: 3,76 mEq/l	Proteínas totales: 7,2 g/dl
Albúmina: 3,7 g/dl	ALT: 29 U/l	AST: 21 U/l	GGT: 113 U/l	FA: 148 U/l
LDH: 162 U/l	Bilirrubina: 0,3 mg/dl	PCR: 11,39 mg/dl		
HEMOSTASIA				
AP: 87%	TTPa: 28 sec			

Abreviaturas - VCM: volumen corpuscular medio, HCM: hemoglobina corpuscular media, CHCM: concentración de hemoglobina corpuscular media, ADE: ancho de distribución eritrocitaria, abs.: absolutos, ALT: alanina amino transferasa, AST: aspartato amino transferasa, GGT: gamma glutaril transferasa, FA: fosfatasa alcalina, LDH: lactato deshidrogenasa, PCR: proteína C reactiva, AP: actividad de protrombina, TTPa: tiempo parcial de protrombina activada.

Tabla 1. Valores analíticos a su llegada a urgencias.



Figura 1. Múltiples petequias en paladar blando y miembros inferiores. Elaboración propia.

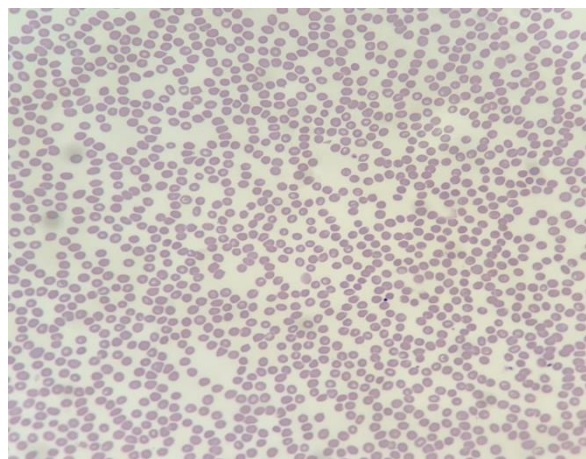


Figura 2. Frotis de sangre periférica donde se confirma la trombopenia. Elaboración propia.



Figura 3. Lesión cavitada pulmonar en la radiografía de tórax a su llegada a Urgencias. Elaboración propia.

Ante una trombopenia aislada es mandatorio corroborarla con una extensión de sangre periférica, que además permite orientar sobre el diagnóstico de presunción al poder detectar o descartar otras alteraciones relevantes:

- Agregados plaquetarios (pseudotrombopenia por EDTA).
- Dacriocitos, normoblastos o formas inmaduras de la serie blanca (sospecha de infiltración de médula ósea).
- Esquistocitos (microangiopatía trombótica).
- Rasgos displásicos en serie eritroide, granulocítica y/o plaquetaria (sospecha de síndrome mielodisplásico).

En este caso el frotis era sugestivo, descartadas otras causas, de trombocitopenia inmune y, dado el contexto epidemiológico y clínico, parecía altamente probable que se tratara de una forma de trombocitopenia inmune secundaria a tuberculosis pulmonar.

Con la sospecha mencionada se solicitó una tinción de Ziehl-Neelsen en esputo urgente así como una prueba de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de *M.tuberculosis complex* para confirmar el diagnóstico. La tinción de Ziehl-

Neelsen en esputo fue intensamente positiva, así como posteriormente la PCR de *M. tuberculosis complex*, la cual detectaba además una mutación en el codón 511 del gen *rpoB*, asociada con resistencia genética a rifampicina.

5. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

5.1. Radiografía de tórax:

Destaca la presencia de una lesión cavitada de 5cm de diámetro en ápex pulmonar derecho acompañada de infiltrados micronodulares en lóbulo superior derecho, radiológicamente sugestivos en primera instancia de tuberculosis pulmonar (Figura 3).

6. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Enfermedad tuberculosa pulmonar y trombocitopenia inmune asociada (PTI secundaria).

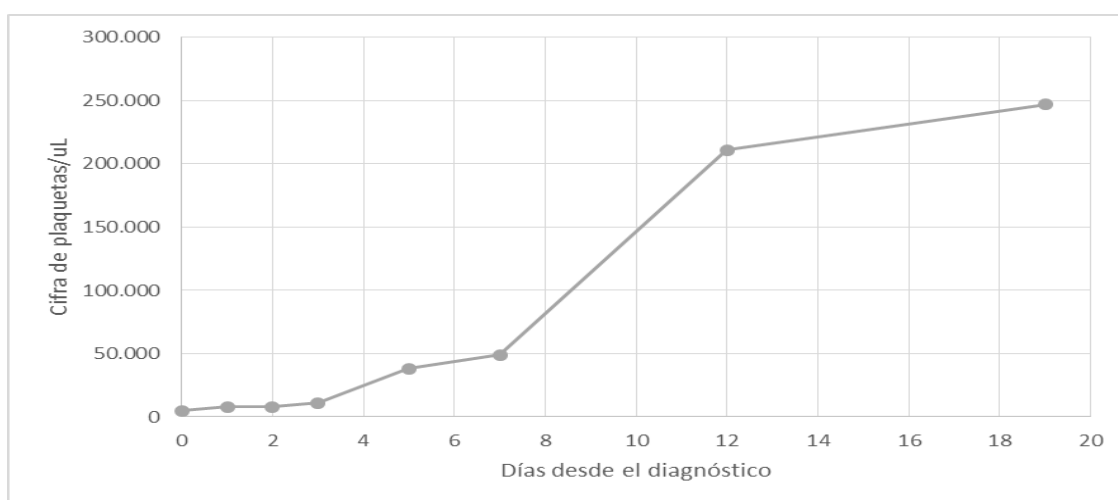


Figura 4. Evolución de la cifra de plaquetas desde su llegada a urgencias e inicio de tratamiento. Elaboración propia.

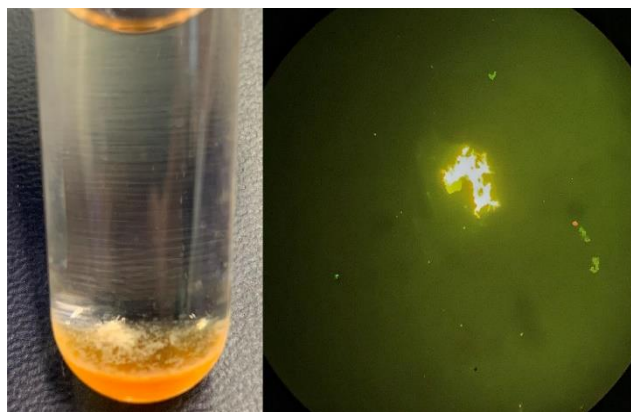


Figura 5. Derecha: cultivo en medio líquido de *M. tuberculosis complex*. Izquierda: tinción de auramina-rodamina de la muestra. Elaboración propia. Agradecimientos al Servicio de Microbiología, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid.

7. EVOLUCIÓN

Se inició tratamiento con isoniazida, etambutol, pirazinamida, linezolid, moxifloxacino y clofazmina.

La trombopenia se mantuvo sin cambios a pesar del inicio de corticoterapia e inmunoglobulinas intravenosas (IgIV) poliespecíficas, y no fue hasta la introducción de los tuberculostáticos cuando presentó una marcada mejoría, sin producirse recidivas posteriores (Figura 4).

A los 10 días, el cultivo del esputo en medio líquido fue positivo, identificándose colonias de *M. tuberculosis complex*, al igual que mediante la tinción de auramina-rodamina de este mismo cultivo (Figura 5). El análisis molecular en un centro especializado permitió identificar la cepa aislada como la misma que se había detectado 9 años antes en el compañero de trabajo con el que había mantenido el contacto.

La evolución del proceso tuberculoso fue excelente. Tras 9 meses de tratamiento antituberculoso, el paciente se encontraba clínicamente asintomático, la radiografía de tórax mostraba resolución de las alteraciones descritas al diagnóstico y las pruebas microbiológicas ya eran negativas. La trombopenia se resolvió en las primeras semanas y no volvió a presentarse.

8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

Nos encontramos ante un caso clínico característico de tuberculosis pulmonar asociando un proceso intercurrente descrito en la literatura, pero cuya incidencia no se encuentra bien establecida, como es la trombocitopenia inmune secundaria a tuberculosis. Un estudio reciente de trombocitopenia inmune en Taiwán mostraba que la tuberculosis presentaba un riesgo relativo de 5,37 de asociar trombocitopenia asociada frente a controles sanos (2,72-10,61). Es posible incluso que esta asociación se encuentre infradiagnosticada, dada la escasez de recursos de diagnóstico en muchas de las zonas donde la tuberculosis es endémica.

La hipótesis patogénica más reconocida para explicar esta relación es que los anticuerpos producidos por el organismo frente al bacilo tuberculoso sean capaces de fijarse a diversos antígenos plaquetarios, conduciendo a las plaquetas a su destrucción esplénica.

La única revisión publicada sobre el tema recoge unos 50 casos de trombocitopenia secundaria a tuberculosis. En ella se muestra que la mayoría de casos se asocian a formas extrapulmonares y/o diseminadas, llegándose al diagnóstico de tuberculosis solo como consecuencia del estudio etiológico de la trombocitopenia.

Aunque el tratamiento antituberculoso parece ser suficiente para la recuperación de la cifra de plaquetas, ante pacientes con evidencia de sangrado o alto riesgo de este (como sería el caso aquí descrito, con hemoptisis, petequias y 5.000 plaquetas/ μ L) ha de valorarse iniciar terapias dirigidas frente a la trombocitopenia, siendo el tratamiento de elección la corticoterapia (prednisona o dexametasona), en ocasiones asociado a IgIV polivalentes, las cuales pueden conseguir una recuperación de las plaquetas más rápida pero recortada en el tiempo.

- Dos conclusiones pueden extraerse de este caso clínico: por una parte, la importancia de conocer que la tuberculosis, enfermedad aún muy prevalente en nuestro país particularmente en determinados grupos de riesgo, puede presentar una trombocitopenia inmune asociada, la cual, si no es diagnosticada y tenida en cuenta, puede implicar un incremento de morbilidad y mortalidad añadido como consecuencia de posibles manifestaciones hemorrágicas potencialmente mortales. Por otra parte, todo profesional encargado de evaluar trombocitopenias debe saber su asociación con la tuberculosis (tanto pulmonar como atípica en localización y comportamiento) para un correcto estudio diagnóstico y de categorización, pues pacientes con esta patología que sean catalogados como trombocitopenias inmunes primarias probablemente no respondan adecuadamente a los tratamientos, los cuales podrían ser incluso potencialmente iatrogénicos para ellos.

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Wu SR, Kuo HC, Kuo HC, Huang WC, Huang YF, Chiou YH et al. Incidence, clinical characteristics and associated diseases in patients with immune thrombocytopenia: a nationwide population-based study in Taiwan. *Thromb Res.* 2018;164:90-95.
- Ghobrial MW, Albornoz MA. Immune thrombocytopenia: a rare presenting manifestation of tuberculosis. *Am J Hematol.* 2001;67(2): 139-143.
- Weber SF; B  lard S, R  dy R, Belurkar S, Saravu K. Immune thrombocytopenia secondary to tuberculosis: a case and review of literature. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2017;21(4)466-470.

17-UNA ALTERACIÓN DE LA HEMOSTASIA POR UN SOSPECHOSO POCO HABITUAL

Autores: Rodrigo Gil Manso, Mario Rodríguez Rodríguez, Nerea Castro Quismondo.

Servicio de Hematología y Hemoterapia, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid.

Palabras clave: Hemostasia, TTPa, Kininógeno de alto peso molecular.

1. INTRODUCCIÓN

La hemostasia secundaria es el proceso mediante el cual, tras la formación del tapón plaquetario se produce la activación de una serie de enzimas séricas, los factores de la coagulación (F), de forma concatenada hasta dar lugar a la fibrina, proteína insoluble que se polimeriza y conforma un tapón hemostático definitivo. Aunque el sistema de la coagulación *in vivo* es complejo e involucra a los distintos factores de ambas vías, generalmente en el laboratorio asistencial se estudian el tiempo de protrombina (TP) y tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPa), cada uno sensible a las alteraciones de determinados factores, y con diversidad de utilidades clínicas, como la monitorización de fármacos anticoagulantes (antagonistas de la vitamina K y heparina). En general, la detección de una alteración en estos estudios presenta una causa justificada a través de la historia clínica, si bien en otras ocasiones se detectan alteraciones sin una clara justificación y que requieren de un estudio razonado y sistemático. A continuación, presentamos un caso atendido en nuestro servicio de un paciente con un alargamiento aislado de TTPa por un motivo poco frecuente y el estudio realizado.

2. CASO CLÍNICO

2.1 Motivo de consulta:

Detección de TTPa alargado.

2.2 Antecedentes personales:

Niega historia previa epistaxis, gingivorragias ni sangrados mucocutáneos. Tampoco refiere aparición de hematomas espontáneos, hemartros ni hematomas musculares. No presenta antecedentes de trombosis.

2.3 Antecedentes familiares:

Niega antecedentes familiares de hemorragias ni trombosis. No sabe precisar si otros familiares presentan esta alteración.

2.4 Historia actual:

Varón de 31 años derivado desde consulta de Anestesiología (previo a Cirugía Maxilofacial) por detección de TTPa marcadamente alargado (195 segundos), sin asociar otras alteraciones. El paciente no refiere episodios hemorrágicos ni trombosis. Niega también toma de fármacos.

La exploración física es anodina, sin estigmas de sangrado.

3. ESTUDIO DE LABORATORIO

A continuación, se muestra la analítica básica solicitada (Tabla 1), con un perfil renal y hepático dentro de la normalidad, el hemograma no muestra alteraciones y la coagulación presenta una marcada prolongación del TTPa sin asociar alteraciones del TP ni del tiempo de trombina (TT), ni descenso de fibrinógeno.

4. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

A la hora de estudiar una alteración de la coagulación debemos entender que las pruebas de coagulación básicas (TP y TTPa) evalúan la hemostasia mediante distintos reactivos y medir distintos factores, sin representar por tanto de forma fidedigna el proceso de hemostasia secundaria que ocurre *in vivo*. El TP estudia aquellos factores de la vía extrínseca (FVII) así como de la vía común de la hemostasia (FX, FV, FII o protrombina y el fibrinógeno), mientras que el TTPa estudia los factores implicados en la vía intrínseca (FXII, FXI, FIX, FVIII) y la vía común (los antes referidos). Por su parte el TT mide los niveles de fibrinógeno, al tratarse de un ensayo que evalúa la formación de fibrina tras añadir trombina (FIIa) (Figura 1).

Ante la detección de un TTPa alargado de forma aislada (sin asociar descenso de fibrinógeno ni alteración del TP) debemos tener en cuenta los diagnósticos diferenciales que se muestran en la Figura 2.

En primer lugar, deberemos evaluar si el paciente presenta clínica hemorrágica, pues esto orientará el diagnóstico y las posibles medidas urgentes de actuación.

Un incidente relativamente frecuente en la práctica diaria es que el paciente se encuentre bajo tratamiento con heparina o bien que la analítica se extraiga de una vía heparinizada. En este caso encontraremos un TTPa alargado acompañado de un TT también alargado. Para confirmar la presencia de heparina en la muestra podemos realizar un tiempo de reptilase, ensayo equivalente al TT pero que emplea como reactivo veneno de *Bothrops atrox* en vez de trombina, el cual no es sensible a la presencia de heparina, y por tanto no se muestra prolongado a pesar de que el TT sí lo esté. También el dabigatrán, un anticoagulante oral que actúa inhibiendo de forma directa la trombina produce prolongación del TTPa, si bien esta medida no se emplea para monitorizar el tratamiento.

BIOQUÍMICA (Valores de referencia)			
Glucosa: 96 mg/dL (70 – 110)	Creatinina: 0,80 mg/dL (0,7 – 1,2)	Sodio: 145 mEq/L (136 – 145)	Potasio: 4,79 mEq/L (3,5 – 5,1)
Cloro: 105 mEq/L (98 – 107)			
HEMOGRAMA (Valores de referencia)			
Hematíes: 5,05 millones/ μ L (4,2 – 5,6)	Hemoglobina: 15,8 g/dL (13 – 16,8)	Hematocrito: 46,5% (39,1 – 49,7)	VCM: 92,1 fl (82,5 – 97,9)
HCM: 31,4 pg (27,5 – 33,5)	CHCM: 34 g/dL (32,6 – 35)	RDW: 13,6% (12 – 14,6)	Plaquetas: 322.000/ μ L (140.000 – 450.000)
Leucocitos: 6000/ μ L (4.000 – 11.300)	Neutrófilos: 3200/ μ L (1.800 – 7.400)	Linfocitos: 2.200/ μ L (1.200 – 4.000)	Monocitos: 500/ μ L (300 – 900)
Eosinófilos: 100/ μ L (0 – 500)	Basófilos: 0/ μ L (0 – 100)		
HEMOSTASIA (Valores de referencia)			
Actividad de protrombina: 122% (75 – 140)	INR: 0,89 (0,8 – 1,2)	TTPa: 121 seg (26 – 39)	Fibrinógeno: 359 mg/dL (200 – 450)
TT: 15 seg (14 – 22)			

Tabla 1. Valores analíticos a su llegada a consulta. VCM: volumen corpuscular medio; HCM: hemoglobina corpuscular media; CHCM: concentración de hemoglobina corpuscular media; RDW: amplitud de distribución eritrocitaria; INR: ratio internacional normalizado; TTPa: tiempo de tromboplastina parcial activado; TT: tiempo de trombina.

Elaboración propia.

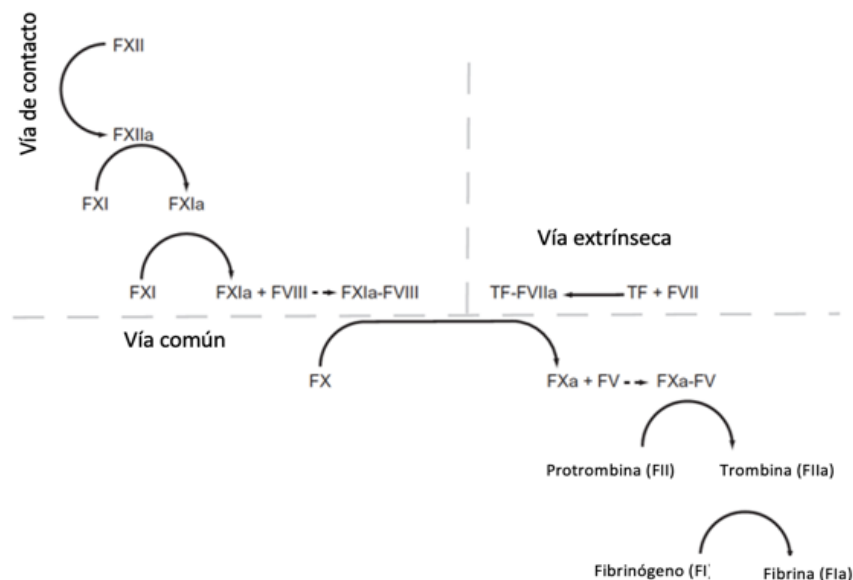


Figura 1. Esquema de las vías de activación de la coagulación *in vitro*.

TF: factor tisular. Adaptado de Winter WE *et al.*, 2017¹.

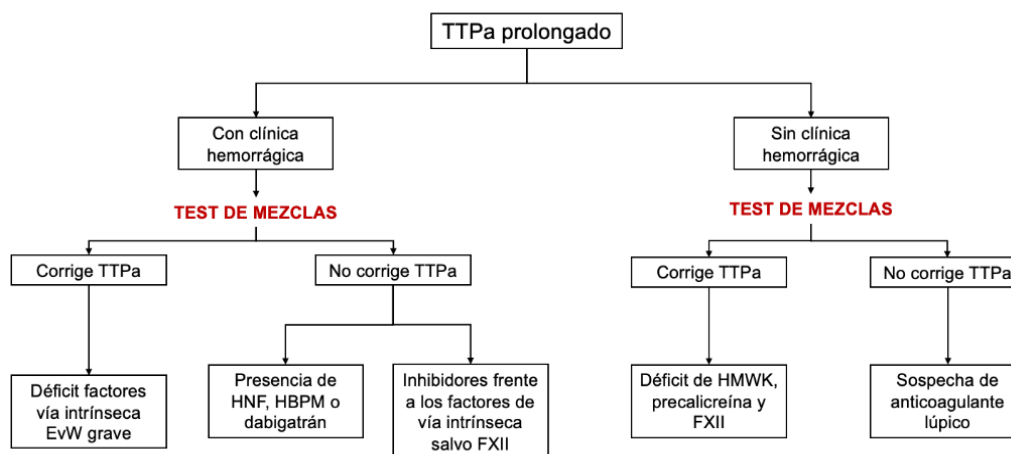


Figura 2. Diagnóstico diferencial de un tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa). HNF: heparina no fraccionada, HBPM: heparina de bajo peso molecular, EVW: enfermedad de von Willebrand. Adaptado de Bernardo Gutiérrez A, 2018.

Generalmente, tras descartar la presencia de heparina el siguiente paso consiste en realizar un test de mezclas, que consiste en mezclar la muestra con plasma control que presenta todos los factores de coagulación y realizar un nuevo TTPa. Si este corrige orienta hacia un déficit de factores de coagulación de la vía intrínseca, mientras que si no corrige hace sospechar la presencia de un anticoagulante lúpico (ACL) o menos frecuentemente, inhibidores de factores de coagulación, auto o aloanticuerpos que se unen a los distintos factores de la coagulación e impiden su correcta actuación (si se trata del FVIII hablamos de hemofilia A adquirida y si se trata del FIX nos encontramos con una hemofilia B adquirida).

El anticoagulante lúpico, junto con la detección de anticuerpos antifosfolípido, conforman los denominados criterios bioquímicos del síndrome antifosfolípido (trombosis y/o complicaciones trombóticas obstétricas), si bien también puede detectarse incidentalmente en numerosos procesos autoinmunes o de forma aislada sin asociar otra patología. Los fosfolípidos son necesarios para activar la vía intrínseca de la coagulación. Se denomina ACL al efecto por el cual los anticuerpos bloquean estos fosfolípidos, impidiendo la activación de la coagulación, y por tanto prolongando el TTPa (sin asociar clínica hemorrágica). Característicamente, al añadir fosfolípidos en exceso el TTPa se corrige.

En nuestro caso, tras la mezcla la muestra corregía por completo, lo cual, junto con la normalidad del TT hacía sospechar un defecto de los factores de la vía intrínseca.

Por tanto, nos encontramos con un paciente sin clínica hemorrágica, con un TTPa llamativamente alargado, pero con TT normal, que no presenta fenómeno de ACL y que además corrige con un test de mezclas.

En la práctica habitual se realiza la dosificación de los FXII, FXI, FIX y FVIII, expresándose en forma de porcentaje o U/dL y considerándose normal por encima del 60% de la actividad funcional del factor (valor de referencia (V.R.) variable según laboratorios). El déficit de FXI, FIX y FVIII se asocia a clínica hemorrágica y generalmente requiere de medidas profilácticas y terapéuticas especiales (según niveles y fenotipo hemorrágico). Por el contrario, el déficit de FXII, que

ocasiona TTPa alargado, no se relaciona con clínica hemorrágica, sino que paradójicamente podría asociarse a un aumento del riesgo trombótico.

5. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

En nuestro caso la dosificación de los factores era la siguiente: FVIII 113% (V.R. 60-150%), FIX 108% (V.R. 60-130%), FXI 84% (V.R. 60-130%) y FXII 129% (V.R. 60-130%), por tanto, todos ellos dentro de la normalidad.

Con todos los resultados dentro de la normalidad y recordando que el paciente no presentaba clínica hemorrágica actual ni previa nos planteamos el estudio de otros factores, como la precalicreína y el kininógeno de alto peso molecular (HMWK), cuyo déficit es extremadamente infrecuente por lo que generalmente no se tiene en cuenta en la práctica diaria y no son medibles en la mayoría de los laboratorios de rutina.

Aunque se tiende a simplificar, la vía intrínseca de la coagulación, denominada así porque se activa de forma espontánea tras entrar en contacto con una superficie cargada negativamente, se inicia con la activación de pequeñas cantidades de FXII a FXIIa, este a su vez activa a la precalicreína que se convierte en calicreína empleando como cofactor al HMWK. Una vez activada genera grandes cantidades de FXIIa que terminan por activar al resto de factores de la vía.

Al igual que ocurre con el FXII, el déficit de estos dos factores no se asocia a clínica hemorrágica (tampoco aumenta el riesgo trombótico) pero sí origina TTPa marcadamente prolongados.

Con esta sospecha se solicitó el estudio en un centro especializado de estos 2 factores con los siguientes resultados: niveles de precalicreína del 60% y niveles de HMWK inferiores al 2% (comprobado en 2 muestras separadas en el tiempo), V.R. para ambas determinaciones es 70-120%. En la Tabla 2 se muestra un resumen de las alteraciones de la hemostasia de nuestro paciente y sus valores de referencia.

RESUMEN DE LOS RESULTADOS DE HEMOSTASIA (Valores de referencia)			
Actividad de protrombina: 122% (75 – 140)	TTPa: 195 sec (26 – 39)	TTPa mezcla: 27,20 sec	TT: 15 sec (14 – 22)
FVIII: 113% (60 – 130)	FIX: 108% (60 – 130)	FXI: 84% (60 – 130)	FXII: 129% (60 – 130)
Precalicroína: 60% (70 – 120)	HMWK: <2% (70 – 120)		

Tabla 2. Resumen de alteraciones de los resultados de hemostasia de nuestro paciente. TTPa: tiempo de tromboplastina parcial activado; TT: tiempo de trombina; HMWK: kininógeno de alto peso molecular. Elaboración propia.

6. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Con estos resultados se llegó al diagnóstico definitivo de déficit grave de HMWK.

Como hemos remarcado el déficit de HMWK es una entidad muy rara que no se relaciona con clínica hemorrágica. Se le presume un origen hereditario si bien en este caso no llegó a realizarse estudio genético. Será fundamental remarcar las particularidades de este déficit y la ausencia de medidas preoperatorias específicas para evitar hemorragias. En caso de alteraciones similares en familiares habrá que tener esta entidad dentro del diagnóstico diferencial.

7. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

El kininógeno y la precalicroína forman parte fundamental de la fase de activación de la vía intrínseca de la coagulación, si bien también presenta un papel en otros importantes procesos fisiológicos, entre ellos la tonicidad de los vasos sanguíneos (vía de la bradiquinina) y el desarrollo de la respuesta inmune frente a patógenos.

El kininógeno es sintetizado a partir del gen KNG1 en el cromosoma 3q27, que mediante *splicing* alternativo puede dar lugar tanto a los kininógenos de bajo peso molecular como al HMWK. Ambos tipos poseen los dominios capaces de activar la cascada de la bradiquinina y por tanto regular la tonicidad vascular, mientras que los dominios responsables de activar la cascada de la coagulación son únicos del

HMWK. En la Figura 3 se muestra la estructura esquemática de las dos formas de kininógeno.

El déficit de HMWK es extremadamente raro, con pocos casos descritos en la literatura, y en general es debido a mutaciones del gen KNG1 que truncan la síntesis de estas variantes de alto peso molecular. Los pocos casos descritos parecen asociar adicionalmente niveles descendidos de precalicroína (como en nuestro caso), siendo la hipótesis más reconocida la de que el HMWK se une en plasma a la precalicroína reduciendo su velocidad de eliminación. Al igual que el déficit de FXII no asocia un mayor riesgo de sangrado, y tampoco está claro que se relacione con mayor riesgo de trombosis e incluso modelos animales con delección del gen KNG1 presentaban menor tendencia a la trombosis tras daño al endotelio vascular.

En general, las pruebas funcionales son suficientes para su diagnóstico no siendo necesarias pruebas genéticas, aunque éstas pueden ser útiles para el diagnóstico familiar.

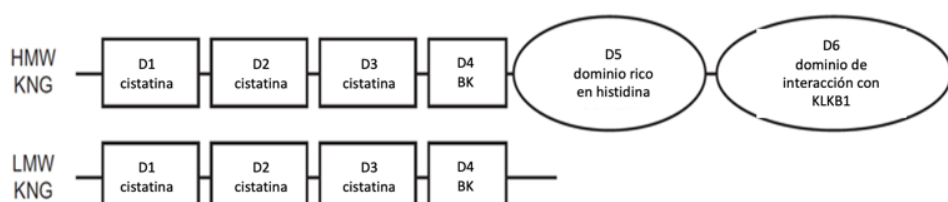


Figura 3. Estructura de las formas de kininógeno humano. El D5 interacciona con superficies cargadas negativamente. El D6 interacciona con la precalicroína. HMW KNG: kininógeno de alto peso molecular, LMW KNG: kininógeno de bajo peso molecular, D: dominio, BK: bradiquinina. KLKB1: precalicroína.

Adaptado de Wong M, 2016².

BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. Winter WE, Flax SD, Harris NS. Coagulation Testing in the Core Laboratory. Lab Med. 2017;48(4):295-313.
2. Wong M. Kininogen. En: Takei Y, Ando H, Tsutsui K, editores. Handbook of Hormones. 1º ed. Oxford: Academic Press; 2016. p.268-270.
3. Yang J, Fan L, Qiao Y, Zhao Y, Zhu T. Severe high-molecular-weight kininogen deficiency due to a homozygous c.1456C > T nonsense variant in a large Chinese family. J Thromb Thrombolysis. 2020;50(4):989-994.

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Bernardo Gutiérrez A. Pruebas Básicas De Coagulación. En: Soto Ortega I, Álvarez Román MT, editores. Hemostasia y Trombosis en la práctica clínica. Madrid: Ergón; 2018. p 25-40.

18-DÉFICIT DE PIRUVATO QUINASA: UN DIAGNÓSTICO COMPLEJO

Autores: Buenaventura Buendía Ureña¹, Ylenia Pérez Arnaiz², Sandra Gómez Rojas¹

¹Servicio de Hematología y Hemoterapia, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

²Servicio de Bioquímica Clínica y Análisis Clínicos, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Palabras clave: Piruvato quinasa, Actividad enzimática, Secuenciación masiva

1. INTRODUCCIÓN

El déficit de piruvato quinasa (PK) es la segunda enzimopatía más frecuente (tras el déficit de glucosa 6-fosfato deshidrogenasa) y la más frecuente de la vía glucolítica, siendo la principal causa de anemia hemolítica crónica congénita no esferocítica. Presenta un patrón de herencia autosómico recesivo y se han descrito más de 600 familias afectas hasta la fecha.

El metabolismo de los eritrocitos es particular, ya que el 75% de la energía obtenida proviene del ATP y del NADH obtenidos a través de la glucólisis anaerobia o vía Embden-Meyerhoff. En dicha ruta, la glucosa se cataboliza hasta obtener piruvato como producto final. El último paso de la glucólisis está catalizado por la enzima piruvato quinasa, enzima reguladora y alostérica de la vía, que transforma el fosfoenolpiruvato en piruvato, transfiriendo un grupo fosfato al ADP para dar lugar a ATP, produciendo 2 moléculas de ATP por cada glucosa metabolizada. El ATP es esencial para el mantenimiento de la bicapa lipídica que conforma la membrana del hematíe, por lo que, ante el déficit de PK y, en consecuencia, la disminución de ATP generado, los hematíes se lisan de forma precoz.

El debut de la enfermedad es variable, desde formas perinatales hasta aparición en la edad adulta. El déficit de piruvato quinasa provoca un espectro de signos y síntomas de gravedad variable, desde anemias leves hasta anemias más graves dependientes de transfusión, esplenomegalia, ictericia y colelitiasis. La sobrecarga de hierro es una complicación frecuente en los pacientes dependientes de transfusión, pero también puede verse en pacientes no transfundidos. La hemólisis aumenta en situaciones como infecciones agudas, estrés o embarazo.

La prevalencia real del déficit de PK es difícil de estimar. Basándose en las frecuencias alélicas, se calcula en 5 enfermos por 100.000 habitantes, pero en Europa se ha comunicado una prevalencia de 3,3 casos por millón de habitantes. La enorme discrepancia entre la prevalencia calculada y la comunicada se debe a la dificultad del diagnóstico, establecido con la clínica y la dosificación de la actividad enzimática. Debido a que la actividad enzimática no es fácil de estandarizar se recomienda siempre confirmar el diagnóstico mediante estudio molecular.

2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

2.1 Motivo de consulta:

Mujer de 57 años en seguimiento desde hace años en consultas de Hematología por anemia hemolítica crónica.

2.2 Antecedentes personales:

Entre los antecedentes personales destacan:

- Adenoidectomía y amigdalectomía en la infancia.
- Fractura de tibia y peroné derechos tras atropello.
- Cuadro de cólico renoureteral sin nuevos episodios posteriores.
- No tratamiento habitual.

2.3 Antecedentes familiares:

Sin antecedentes familiares de anemia ni hemopatías.

2.4 Enfermedad actual:

Paciente en seguimiento desde hace años en consultas de Hematología por anemia hemolítica crónica. La paciente se ha mantenido asintomática durante los años de seguimiento. No refiere cefalea, disnea, dolor torácico ni otra sintomatología sugestiva de síndrome anémico. No ictericia ni cambios de coloración de la orina o las heces. No dolor abdominal ni cambios en el ritmo intestinal. No fiebre ni infecciones de repetición.

2.5 Exploración física:

Buen estado general, afebril.

- Auscultación cardiaca: rítmica sin soplos.
- Auscultación pulmonar: murmullo vesicular conservado sin ruidos sobreañadidos.
- Abdomen: blando, depresible, no doloroso a la palpación, no se palpa hepatomegalia ni esplenomegalia.
- Miembros inferiores: no edemas.

3. INFORME DEL LABORATORIO

Desde el inicio del seguimiento en consultas de Hematología, la paciente presentaba anemia leve, con mínima alteración de algunos parámetros de hemólisis. En la Tabla 1 se muestra la analítica más reciente de la paciente, cuyos valores son similares a los que ha presentado a lo largo del seguimiento. Los parámetros de la analítica básica que no

Parámetros	Valor	Intervalo de referencia
Hemoglobina	10,6 g/dL	11,4-15,1 g/dL
Hematocrito	29,6%	34,4-45-2%
VCM	91,5 fL	82,1-97,7 fL
HCM	31,9 pg	27-33,5 pg
Reticulocitos	176,3 x1000 / μ L	17,1-54,5 x1000 / μ L
Reticulocitos (%)	4,6%	0,4-1,3%
LDH	158 U/L	135-225 U/L
Bilirrubina	2,2 mg/dL	0,2-1,0 mg/dL
Haptoglobina	37,5 mg/dL	35-152 mg/dL
Ferritina	844 ng/mL	15-150 ng/mL
Hierro	57 μ g/dL	37-145 μ g/dL
Saturación de transferrina	17%	20-50%

Tabla 1. Análisis de sangre. Sólo se exponen los parámetros con interés para el caso clínico. Elaboración propia.

aparecen en la tabla estaban dentro del rango de la normalidad.

Para completar el estudio, a lo largo del seguimiento se solicitaron las siguientes pruebas diagnósticas:

- Morfología de sangre periférica: sin alteraciones morfológicas significativas.
- Test de Coombs directo: negativo.
- Panel de autoinmunidad: negativo.
- Test de fragilidad osmótica y 5-eosina maleimida (5-EMA): negativos.
- Estudios de actividad enzimática:
 - Glucosa 6-fosfato deshidrogenasa: negativo
 - Piruvato quinasa: negativo
- Aspirado de médula ósea: médula ósea hiper celular con hiperplasia eritroide y presencia de discretos rasgos displásicos en las series mieloide y eritroide insuficientes para clasificar como SMD (en probable contexto hemolítico).
- Ecografía abdominal: sospecha de esteatohepatitis. Esplenomegalia de 13,2 cm.

En resumen, se trata de una paciente con anemia hemolítica crónica: anemia leve normocítica normocrómica, asintomática y sin ninguna limitación en su vida diaria, con ligera elevación de bilirrubina y reticulocitos y con esplenomegalia de 13,2 cm. Hasta el momento, todas las pruebas que se han realizado para intentar identificar la causa de la hemólisis han sido negativas o normales. Por ese

motivo, se solicita estudio molecular mediante secuenciación masiva (NGS) de los genes relacionados con anemia hemolítica crónica. Este panel incluye tanto genes que codifican proteínas de la membrana del hematíe como genes que codifican enzimas cuyo déficit provoca anemia hemolítica.

Como resultado del estudio, se identifica en homocigosis la variante c.1277G>A, (p.Arg426Gln) en el gen *PKLR*, gen que codifica para la enzima piruvato quinasa. Esta variante consiste en una transición de una guanina por una adenina que, presumiblemente, produce el cambio de la arginina del codón 426 por una glutamina en la proteína codificada. Esta variante ha sido descrita en la literatura en pacientes con anemia hemolítica secundaria a déficit de piruvato quinasa, su frecuencia en bases de datos poblacionales es baja y los programas bioinformáticos de predicción *in silico* sugieren un posible efecto deletéreo de la variante. Por todo ello, esta variante es clasificada como probablemente patogénica.

Esta variante está asociada a anemia hemolítica secundaria a déficit de piruvato quinasa (MIM#266200) que presenta un patrón de herencia autosómico recesivo, lo que concuerda con el fenotipo de la paciente.

A pesar del genotipo de la paciente, el estudio de la actividad enzimática de la piruvato quinasa realizado años atrás estaba dentro del intervalo de referencia. Por lo tanto, ¿cómo interpretamos estos resultados?

4. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

El déficit de PK debe sospecharse en pacientes con anemia hemolítica crónica, en ausencia de otra clínica o citopenias

añadidas, con normalidad en las pruebas diagnósticas básicas (test de Coombs, fragilidad osmótica, 5-EMA y electroforesis de hemoglobinas).

Para realizar el estudio de actividad enzimática de la piruvato quinasa hay que tener en cuenta que existen cuatro isoenzimas diferentes codificadas por dos genes distintos. El gen *PKLR* que codifica para las isoenzimas L y R y el gen *PKM* que codifica para las isoenzimas M₁ y M₂. La isoenzima PK-L, se expresa predominantemente en hígado, pero también está presente en otros tejidos como páncreas o riñón; sin embargo, la isoenzima PK-R presenta una expresión restringida a hematíes. La isoenzima PK-M₁ se expresa en músculo esquelético, corazón y cerebro y la isoenzima PK-M₂ se expresa en los demás tejidos y células entre los que se incluyen leucocitos y plaquetas.

La cuantificación de la actividad enzimática de la piruvato quinasa se puede determinar de forma rápida y económica mediante el empleo de técnicas espectrofotométricas. Se realiza en muestras de sangre periférica, pero debido a la expresión leucocitaria y plaquetar de la isoenzima PK-M₂, es imprescindible realizar un pretratamiento de la muestra para eliminar estas células, ya que la actividad piruvato quinasa de la isoenzima PK-M₂ puede ocultar la deficiencia enzimática en eritrocitos, dando lugar a falsos negativos. Posteriormente, se lisan los hematíes y se mide la formación de piruvato vinculada a la oxidación de NADH que puede determinarse espectrofotométricamente y será proporcional a la actividad enzimática de PK.

En cuanto a los resultados obtenidos, valores de actividad enzimática inferiores al 25% suelen ser indicativos de pacientes afectados de anemia hemolítica secundaria a déficit de piruvato quinasa (homocigotos para la misma variante patogénica en *PKLR* o heterocigotos compuestos para dos variantes patogénicas distintas en el mismo gen localizadas en *trans*), mientras que en los portadores heterocigotos ésta varía del 40% al 60%.

Sin embargo, es necesario tener en cuenta que existen distintas circunstancias que pueden dar lugar a falsos negativos o falsos positivos.

Además de los falsos negativos originados por un mal pretratamiento de la muestra, hay que tener en cuenta que los reticulocitos pueden expresar niveles normales de la enzima por lo que hay que corregir los datos de actividad enzimática de PK teniendo en cuenta la maduración eritrocitaria de la muestra. El método más habitual es determinar el cociente entre la actividad de la piruvato quinasa y la hexoquinasa (HK). La HK es una enzima cuya actividad también aumenta en presencia de reticulocitos. Por lo tanto, si en la muestra se objetiva un aumento de la actividad de la HK muy superior al de la actividad de PK, el cociente PK/HK estará disminuido de forma significativa, lo que confirma el déficit de PK. Por otro lado, las transfusiones de sangre recientes también pueden producir falsos negativos debido a la actividad normal de los eritrocitos del donante, no debiéndose realizar estudios enzimáticos hasta al menos 50 días desde la última transfusión.

Los falsos positivos suelen deberse a un mal almacenamiento de la muestra, siendo la actividad de la PK estable a 4°C hasta 21 días. Sin embargo, también se han descrito falsos positivos en casos de déficit de otras enzimas anteriores de la vía glucolítica, que producen descenso de los metabolitos posteriores.

La aproximación clásica al diagnóstico del déficit de PK se ha basado en el estudio enzimático, con confirmación genética posterior. Hasta la fecha se han descrito más de 300 variantes genéticas en el gen *PKLR* que se pueden asociar a déficit de PK. El 65% de las variantes descritas son variantes *missense* que producen un cambio de aminoácido, aunque también son frecuentes variantes que provocan desplazamientos en el marco de lectura, variantes que afectan al sitio de splicing o que generan un codón de parada prematuro. La gran cantidad de mutaciones descritas y el gran número de combinaciones existentes dificultan establecer una relación genotipo-fenotipo. Tradicionalmente,

	Ventajas	Inconvenientes
Técnicas enzimáticas	Rápidas Económicas Detectan defectos cuantitativos y funcionales Pueden confirmar la patogenia de una variante de significado incierto	Falta de estandarización Determinación de múltiples enzimas simultáneas No es útil en pacientes transfundidos Interferencia con leucocitos, plaquetas y reticulocitos Estabilidad en transporte y almacenamiento No diferencia entre pacientes y portadores heterocigotos Variantes con actividad <i>in vitro</i> normal
Técnicas de secuenciación masiva	No interferencia con la transfusión Estudio prenatal y consejo genético Poca cantidad de muestra, estable, fácil transporte Estudio simultáneo de otros genes	Laboriosas, tecnología y análisis experto Coste elevado Confirmación por Sanger de variantes no descritas o significado incierto Dificultad de detección de deleciones o variantes intrónicas

Tabla 2. Ventajas e inconvenientes de las diferentes técnicas diagnósticas. Adaptado de Morado M *et al.* 2021.

el estudio genético se ha realizado por secuenciación Sanger, pero se ha ido sustituyendo progresivamente por técnicas de secuenciación masiva que permiten el estudio simultáneo de uno o más genes completos. El estudio por paneles de genes no debe incluir sólo el gen *PKLR*, sino también diferentes genes implicados en otras anemias congénitas. El estudio molecular por secuenciación masiva solventa las limitaciones del estudio enzimático, siendo, por tanto, la actual recomendación de los grupos de expertos. En la Tabla 2 se resumen las ventajas e inconvenientes de cada técnica diagnóstica.

Teniendo en cuenta lo expuesto anteriormente, volvemos a nuestro caso clínico. El estudio de la actividad enzimática de la piruvato quinasa se había realizado varios años antes del análisis mediante secuenciación masiva y no objetivó una disminución de la actividad enzimática, por lo que inicialmente se descartó esta sospecha diagnóstica. En la historia clínica de la paciente sólo está reflejado el resultado de la prueba sin informe adjunto. Por lo tanto, no se puede averiguar por qué el estudio determinó un resultado de la actividad enzimática dentro de la normalidad. Sin embargo, recordando las posibles causas de falsos negativos comentadas anteriormente, se puede aventurar que pudo haber algún problema en el almacenamiento de la muestra, en la propia realización de la técnica o en la interpretación de los resultados.

Por otro lado, pueden surgir dudas sobre el carácter patogénico de la variante identificada. Consultando la base de datos de mutaciones descritas en el gen *PKLR* (www.lovd.nl/pklr), comprobamos que la variante c.1277G>A está descrita como patogénica. Además, revisando la literatura, esta mutación también ha sido estudiada y descrita como patogénica por Kanno *et al.*¹ al ser identificada en una paciente japonesa con anemia crónica sin dependencia transfusional. Además, la madre de la paciente era portadora heterocigota de dicha mutación. En honor a la ciudad en la que se descubrió, los autores bautizaron la enzima con esta variante como PK Sapporo.

Por lo tanto, tenemos una paciente con una anemia hemolítica crónica, con una variante identificada en el análisis mediante NGS que ha sido descrita previamente como patogénica, por lo que, ante la ausencia de otros hallazgos patológicos en las pruebas diagnósticas, podemos asumir que esta variante puede ser la causa de la anemia hemolítica. Para completar el estudio, sería interesante repetir el análisis de la actividad enzimática, evitando incurrir en las posibles causas de falsos negativos. Además, también sería interesante realizar estudio de segregación familiar para averiguar si se trata de una variante heredada o de *novus*, siendo aproximadamente un 3% de las variantes patogénicas en el gen *PKLR* de *novus*.

Como conclusión de este capítulo, el déficit de PK es una causa de anemia hemolítica crónica que está infraestimada por la escasa sospecha clínica en los casos leves y por las

dificultades que conlleva el diagnóstico enzimático correcto. Los avances en las técnicas moleculares están suponiendo una mejora en el diagnóstico de esta patología, permitiendo identificar un mayor número de pacientes y pudiendo realizar estudios familiares, lo que permitirá un mejor manejo de esta enfermedad y de sus posibles complicaciones.

BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. Kanno H, Fujii H, Miwa S. Low substrate affinity of pyruvate kinase variant (PK Sapporo) caused by single amino acid substitution (426 Arg -> Gln) associated with hereditary hemolytic anemia. *Blood*. 1993; 81(9): 2439-2441.

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Arrizabalaga B, González FA, Remacha AF. Eritropatología. 1ª ed. Barcelona: Ambos Marketing Sevices, con el aval de la SEHH y la SEHOP; 2017.
- Bianchi P, Fermo E, Glader B, Kanno H, Agarwal A, Barcellini W et al. Addressing the diagnostic gaps in pyruvate kinase deficiency: Consensus recommendations on the diagnosis of pyruvate kinase deficiency. *Am J Hematol*. 2019 Jan; 94(1): 149-161.
- Grace RF, Layton M, Barcellini W. How we manage patients with pyruvate kinase deficiency. *British Journal of Hematology*. 2019; 184: 721-734.
- Kanno H, Fujii H, Miwa S. Low substrate affinity of pyruvate kinase variant (PK Sapporo) caused by single amino acid substitution (426 Arg -> Gln) associated with hereditary hemolytic anemia. *Blood*. 1993; 81(9): 2439-2441.
- Morado M, Villegas AM, De la Iglesia S, Martínez-Nieto J, Del Orbe Barreto R, Beneitez D et al. Documento de consenso para el diagnóstico y tratamiento del déficit de piruvato quinasa. *Medicina Clínica*. 2021 Ene; 157: 253.e1-253.e8.
- Nelson DL, Cox MM. Glucólisis, gluconeogénesis y ruta de las pentosas fosfato. En: Lehninger. Principios de Bioquímica. 5ª ed. Barcelona: Omega; 2009. p. 527-568.
- Panizo Santos C, González Hernández A, Alegre Martínez E, Monreal Marquiegui I, Mugueta Uribe C, Restituto Aranguibel P et al. Alteraciones eritrocitarias. Hemoglobinopatías. En: González Hernández A. Principios de Bioquímica Clínica y Patología Molecular. 2ed. Barcelona: Elsevier; 2014. p.329-340.

19-HEMOFILIA A ADQUIRIDA: UN RETO DIAGNÓSTICO

Autores: Daniel Gil Alós, Denis Zafra Torres, Nerea Castro Quismondo

Servicio de Hematología y Hemoterapia, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Palabras clave: Hemofilia adquirida, Carcinoma urotelial, Hemorragia digestiva.

1. INTRODUCCIÓN

La hemofilia A adquirida (HAA) es una enfermedad rara, de mecanismo autoinmune, producida por la presencia de autoanticuerpos que actúan como inhibidores del factor VIII (FVIII). La incidencia es aproximadamente de 2 casos por millón de habitantes/año, aunque podría ser mayor dado que puede pasar desapercibida con el consiguiente infradiagnóstico. En la mayoría de los casos la HAA es de causa idiopática (en torno al 50%), aunque también se ha asociado a enfermedades autoinmunes, neoplasias (tanto sólidas como hematológicas), fármacos, infecciones y embarazo/puerperio. La HAA es un trastorno que predispone a sangrados abundantes o en sitios inusuales y que con mayor frecuencia suelen aparecer a nivel de piel y partes blandas, seguidos de sangrado gastrointestinal y genitourinario, retroperitoneal, etc. La HAA es una enfermedad potencialmente grave, con una mortalidad que puede alcanzar hasta el 30-35% en algunas series, siendo el tiempo hasta el diagnóstico uno de los principales factores predictores de mortalidad. Por este motivo es importante tener un alto índice de sospecha para una detección precoz de esta entidad y un inicio del tratamiento lo más temprano posible.

2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

2.1 Motivo de consulta:

Mujer de 57 años que consulta en Urgencias hospitalarias por hematuria desde hace 3 meses.

2.2 Antecedentes personales:

Entre sus antecedentes personales destacan:

- Rinitis alérgica.
- Tabaquismo (fumadora 5 cigarrillos/día).
- Trastorno depresivo en tratamiento con citalopram.

2.3 Antecedentes familiares:

No refiere antecedentes familiares de interés.

2.4 Enfermedad actual:

Acude a Urgencias por un cuadro progresivo de hematuria con coágulos de 3 meses de evolución, acompañado de un síndrome constitucional con hiporexia, pérdida de peso y marcada astenia. Además, presenta dolor tipo cólico a nivel de hipogastrio. No refiere fiebre, sudoración nocturna ni otra clínica acompañante.

2.5 Exploración física:

A la exploración física en Urgencias presenta una tensión arterial de 100/60 mmHg, una frecuencia cardíaca de 120

lpm, saturación de O₂ basal del 99% y estaba afebril. Destaca una marcada palidez mucocutánea. A la auscultación cardíaca se objetiva taquicardia, con tonos rítmicos y un soplo sistólico en foco aórtico que impresiona de funcional. Auscultación pulmonar sin alteraciones. A la palpación abdominal se objetiva una masa pétreo en hipogastrio.

Análíticamente destaca una hemoglobina (Hb) de 2,1 g/dL [11,4-15,1 g/dL], sin otros hallazgos reseñables en el hemograma, la bioquímica o el estudio de coagulación.

La paciente ingresa en el Servicio de Urología donde se realiza una cistoscopia en la que observa una masa en vejiga que ocupa todo el trigono y que es sugestiva de neoplasia vesical, con coágulos adheridos. Se biopsia la masa y se solicita un estudio de extensión con tomografía computerizada (TC) toraco-abdomino-pélvica en el que se observa la masa vesical que produce obstrucción del uréter izquierdo junto a adenopatías retroperitoneales y lesiones pulmonares sugestivas de metástasis.

Durante el ingreso precisa transfusión de múltiples concentrados de hematíes debido a la anemización provocada por la hematuria y por varios episodios de hemorragia digestiva que debutan en forma de melenas. Se realiza una cistoscopia terapéutica por la hematuria y, debido a las melenas, una gastroscopia en la que se objetiva una úlcera duodenal por la que precisa tratamiento endoscópico hasta en dos ocasiones.

3. INFORME DEL LABORATORIO

Desde el momento del ingreso lo más destacable analíticamente es la anemia grave que presenta con una Hb de 2,1 g/dL [11,4-15,1 g/dL] y un hematocrito (Hto) del 7,7% [34,3-45,2 %], con un volumen corpuscular medio normal. En la Figura 1 se refleja la evolución en cuanto a la Hb y Hto durante el ingreso teniendo en cuenta los distintos episodios hemorrágicos y la transfusión de concentrados de hematíes.

A lo largo del ingreso se objetiva en distintos estudios de coagulación básica un alargamiento progresivo del tiempo de tromboplastina parcial activado (TTPa) que inicialmente estaba dentro de la normalidad, como se puede observar en la Tabla 1.

Por tanto, teniendo en cuenta el diagnóstico diferencial se llevan a cabo los estudios de coagulación especial que se describen más adelante.

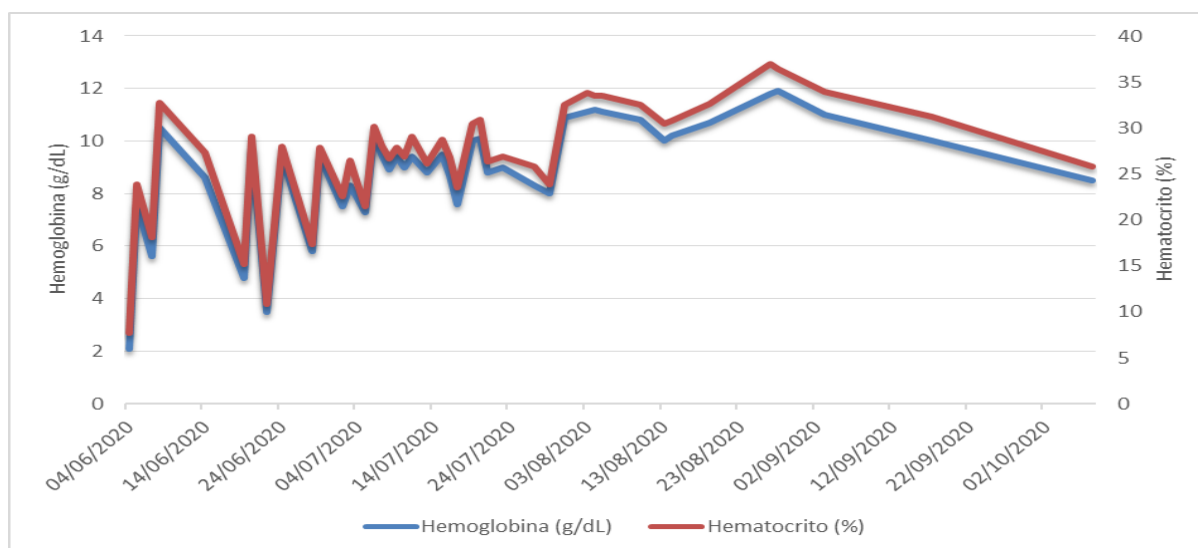


Figura 1. Evolución en las cifras de hemoglobina y hematocrito durante el ingreso. Elaboración propia.

Fecha	TTPa (s) [26-39 s]
04/06/2020	22
07/06/2020	27
10/06/2020	30
14/06/2020	32
15/06/2020	34
23/06/2020	48
25/06/2020	68
05/07/2020	104
08/07/2020	160

Tabla 1. Alargamiento progresivo del TTPa desde el ingreso de la paciente hasta el diagnóstico. TTPa: Tiempo de Tromboplastina Parcial activada. s: segundos. Elaboración propia.

4. DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES

Ante la presencia de TTPa alargado, especialmente en situaciones de urgencia en las que en la mayoría de los laboratorios no se pueden realizar estudios especiales de coagulación (como la dosificación de factores), es importante valorar la clínica del paciente, investigar la toma de fármacos y los resultados del test de mezclas (Figura 2).

Por tanto, en situaciones de TTPa alargado con un test de mezclas que corrija más de un 10% hay que plantearse en primer lugar un déficit de factores de la vía intrínseca o una enfermedad de von Willebrand (EvW) grave. En los casos de TTPa alargado que no corrige tras el test de mezclas, se debe sospechar la presencia de un inhibidor, tras haber descartado la presencia de fármacos (heparina, anti-IIa como dabigatrán) mediante la realización de un tiempo de trombina. En esta situación, lo más probable es que se trate de la presencia de anticoagulante lúpico (AL); sin embargo, si se acompaña de clínica hemorrágica hay que tener en cuenta la posibilidad de que se trate de un inhibidor específico (como es el caso de la hemofilia adquirida).

5. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

A continuación, se describen brevemente las exploraciones complementarias más relevantes realizadas durante el proceso diagnóstico:

- Estudio de coagulación especial (Figura 3):

Para el estudio del alargamiento progresivo del TTPa que se produjo durante el ingreso, lo primero en realizarse es un tiempo de trombina para descartar la presencia de heparina en la muestra. Tras obtener un tiempo de trombina normal, se realiza el test de mezclas inmediato obteniéndose un valor de TTPa de 52 segundos. Dada la ausencia de corrección con el test de mezclas, se realiza una dosificación de factores de la vía intrínseca y una determinación de anticoagulante lúpico. El estudio por métodos coagulométricos pone de relieve una actividad del factor VIII (FVIII) del 0,6% que tras mezcla con un plasma normal e incubación a 37°C durante dos horas se mantiene en el 1%, siendo el resultado compatible con la presencia de un inhibidor específico contra el FVIII. Se realiza también la cuantificación mediante la determinación de Bethesda-Nijmegen obteniendo un título de inhibidor de 30 Unidades Bethesda (UB). La actividad del

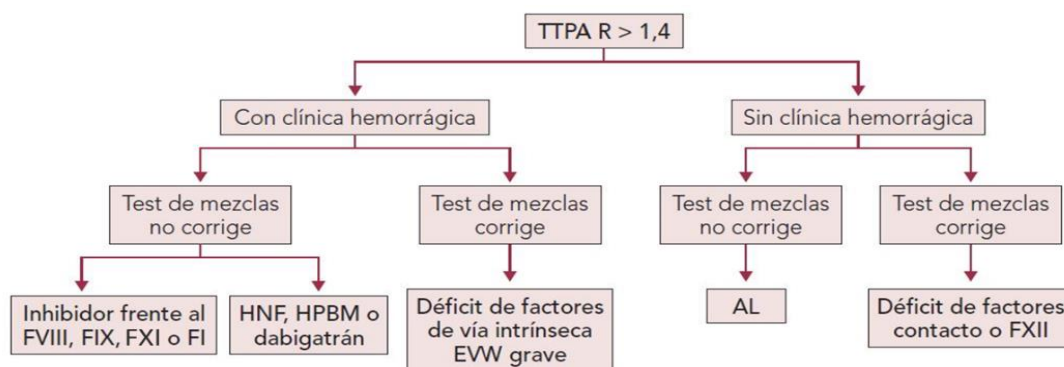


Figura 2. Algoritmo diagnóstico del TTPa alargado en situaciones de urgencia. TTPA R: Ratio de Tiempo de Tromboplastina Parcial Activado. HNF: Heparina No Fraccionada. HPBM: Heparina de Bajo Peso Molecular. EVW: Enfermedad de Von Willebrand. AL: Anticoagulante Lúpico. FI: Fibrinógeno.

Adaptado de: Bernardo Gutiérrez A, 2019.

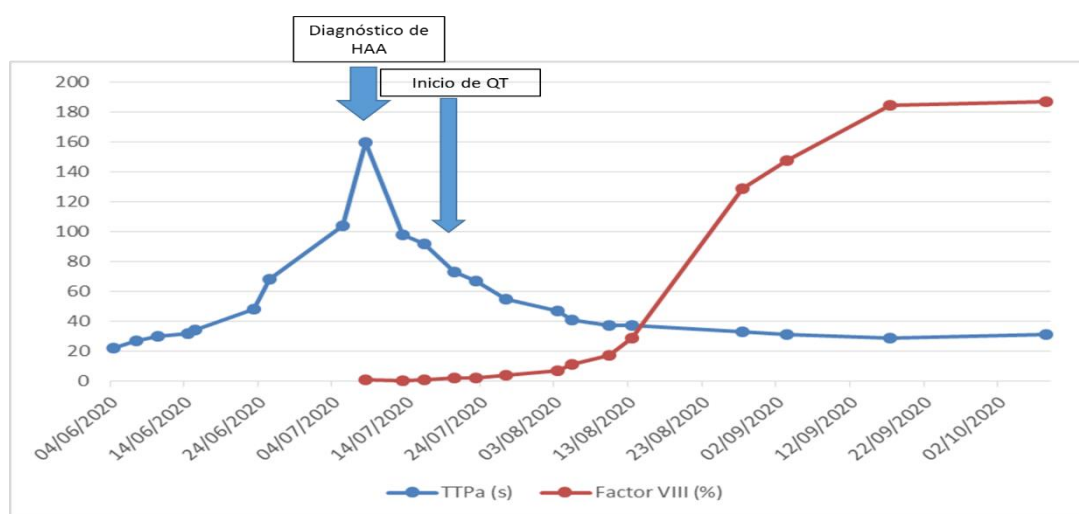


Figura 3. Evolución del TTPa y de la actividad del factor VIII desde el ingreso.

HAA: Hemofilia A adquirida; QT: Quimioterapia; TTPa: Tiempo de Tromboplastina Parcial activada; s: segundos. Elaboración propia.

resto de factores está dentro del rango de normalidad. Además, se detecta la presencia de anticoagulante lúpico mediante el tiempo de coagulación del veneno de víbora de Russell diluido (dVVRT).

- **Gastroscopia:**

Se visualiza en cara anterior de rodilla bulbar duodenal una lesión de 25 mm de diámetro, de bordes regulares, sobreelevados, excavada, con centro de la lesión con coágulo adherido (Forrest IIb) a pesar de lavados intensos, de aspecto indeterminado (péptico vs infiltrativo). Se inyectan 6 cc de adrenalina 1/10.000 en bordes de la lesión y 2 cc de etoxisclerol diluido en el centro de la misma, retrayéndose la lesión. En la cara posterior de la rodilla bulbar se identifica úlcera duodenal con fondo de fibrina (III) de 15 mm de diámetro, de similares características que la anteriormente descrita sin estigmas de sangrado activo ni reciente. Segunda porción duodenal sin alteraciones.

- **Cistoscopia con toma de biopsias:**

Se observan coágulos intravesicales, el mayor de 4 cm, que se desprenden con asa y se extraen los fragmentos. Uretra

normal. Vejiga de buena capacidad. Neoplasia vesical que ocupa todo el trigono y se extiende hacia cara posterior y cara izquierda. No se identifican los orificios ureterales.

- **Anatomía Patológica de biopsias de vejiga:**

Fragmentos de resección transuretral (RTU) vesical compatibles con carcinoma urotelial de alto grado (G3 pT2), que infiltra capa muscular y muestra imágenes de invasión vascular.

- **TC tóraco-abdomino-pélvico:**

Masa vesical (6 cm de diámetro mayor) compatible con proceso neoplásico con signos de diseminación ganglionar infradiaphragmática. Hidronefrosis renoureteral grado III/IV izquierda secundaria a masa vesical. Múltiples nódulos pulmonares sugierentes de metástasis.

6. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

El diagnóstico definitivo tras completar el estudio de coagulación fue:

Hemofilia A adquirida secundaria a neoplasia vesical.

Como otros diagnósticos secundarios asociados destacan:

Carcinoma urotelial de alto grado de vejiga en estadio IV (metástasis pulmonares).

Hemorragia digestiva secundaria a úlceras duodenales Forrest IIb y III.

Anticoagulante lúpico secundario a neoplasia vesical.

7. EVOLUCIÓN

La paciente recibió inicialmente tratamiento con metilprednisolona (60 mg/24h) y ciclofosfamida (100 mg/24h), a pesar de lo cual no hubo mejoría de los niveles de FVIII. Además, dado que la paciente continuaba con hematuria y sangrado digestivo activo en forma de melenas a pesar del tratamiento endoscópico, se añadió tratamiento hemostático con Eptacog alfa®, un factor VII recombinante activado (rFVIIa), a dosis de 90 µg/kg cada 12 horas. A los 3 días se inició el tratamiento quimioterápico para su neoplasia vesical, consistente en cisplatino (75 mg/m²) y gemcitabina (1000 mg/m²). Tras esto, la actividad de FVIII mejoró progresivamente en los siguientes controles alcanzando un nivel de seguridad por encima del 5% a las 4 semanas de inicio el tratamiento, mejorando concomitantemente la clínica hemorrágica y permitiendo el descenso progresivo del tratamiento de soporte (rFVIIa). A las 6 semanas de tratamiento la paciente recibió el alta hospitalaria con unos niveles de FVIII del 26% y resolución de la clínica hemorrágica. A la semana siguiente la paciente ya había normalizado los niveles de FVIII, por lo que se pudo ir reduciendo paulatinamente el tratamiento inmunosupresor con corticoides y ciclofosfamida.

No obstante, a los 2 meses y tras 2 ciclos de quimioterapia, la paciente presentó una progresión franca de su proceso neoplásico con crecimiento local y uropatía obstructiva bilateral y metástasis óseas con fracturas patológicas, presentando un cuadro de deterioro progresivo del estado general que llevó al éxitus de la paciente.

8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

Según las últimas recomendaciones de expertos internacionales¹, para el diagnóstico de HAA hay que determinar la actividad del FVIII, así como cuantificar el título de inhibidor mediante la técnica de Bethesda-Nijmegen o mediante inmunoensayos. Éstos últimos tienen la ventaja de permitir la determinación del tipo de inmunoglobulina implicada, ya que se conoce que los inhibidores de tipo IgA tienen un mayor riesgo de recidiva. La técnica de Bethesda-Nijmegen consiste en la mezcla a partes iguales de plasma del paciente con plasma normal (con FVIII aprox. 100%) junto a una solución tampón a pH 7,4 y su incubación durante 2 horas a 37°C. Tras la determinación posterior del FVIII residual, el título de inhibidor en unidades Bethesda (UB) se extrapolará conociendo que 1 UB se define como la cantidad de inhibidor que neutraliza el 50% del FVIII en plasma normal tras haber sido incubada a 37°C durante 2 horas. A esta temperatura se favorece la unión del inhibidor al FVII, potenciando así su efecto.

Con respecto al tratamiento inmunosupresor (Figura 4), las recomendaciones abogan por el uso de corticoides a dosis de 1 mg/kg y, en caso de presentar una actividad de FVIII < 1% o un título elevado de inhibidor (> 20 UB), añadir rituximab (375 mg/m²/semanal, 4 dosis) o un agente citotóxico como la ciclofosfamida (1-2 mg/kg/día) o el micofenolato de mofetilo (1 g/día una semana seguido de 2

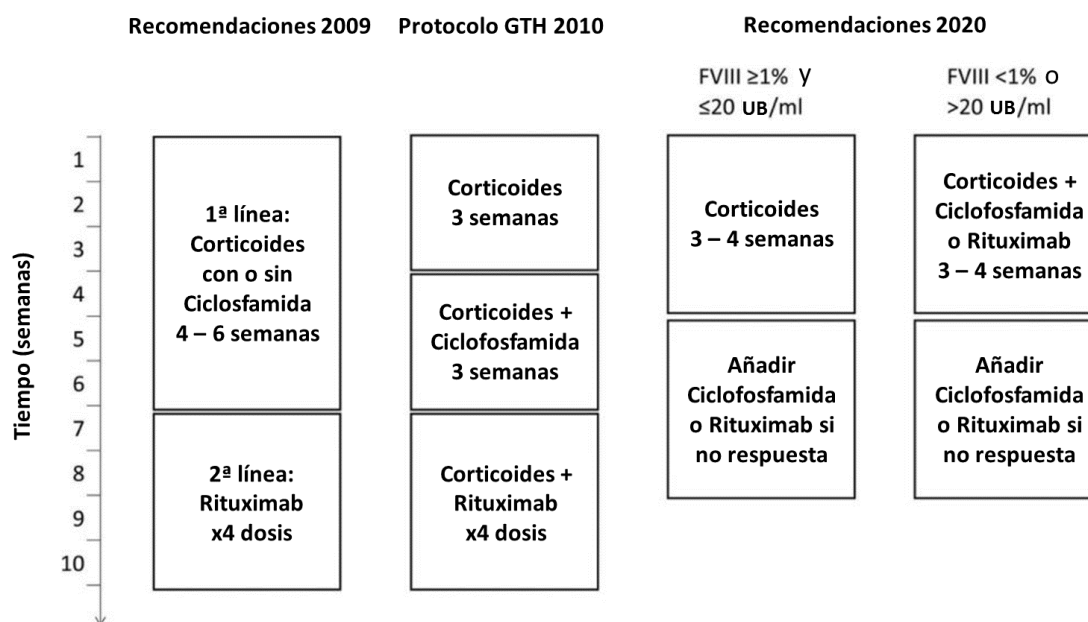


Figura 4. Recomendaciones sobre tratamiento inmunosupresor en hemofilia A adquirida. FVIII: Factor VIII.

UB: Unidades Bethesda. GTH: Sociedad de hemostasia y trombosis de Alemania-Austria-Suiza Adaptado de:

Tiede A et al. 2020.

g/día). En caso de que la HAA sea secundaria a otra causa, es necesario el tratamiento de la condición subyacente además del tratamiento inmunosupresor para poder alcanzar una respuesta adecuada. Además, en caso de presentar clínica hemorrágica se recomienda el empleo de un agente by-pass como el rFVIIa (90 µg/kg) cada 2-3h o el concentrado de complejo protrombínico activado (CCPa, 50-100 mg/kg) cada 8-12h hasta conseguir controlar el sangrado y, posteriormente, ir desescalando progresivamente.

Para el seguimiento se recomienda la determinación de actividad del FVIII mensualmente durante los primeros 6 meses, después cada 2-3 meses durante un año y posteriormente cada 6 meses. Hay que vigilar la posibilidad de recidivas que ocurren en torno al 15-20% en los pacientes tratados solo con corticoides y, con menor frecuencia, en aquellos que han recibido agentes citotóxicos o rituximab. En caso de recidiva, el retratamiento con corticoides a la dosis inicial con desescalada progresiva suele ser efectivo en la mayoría de los casos.

BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. Tiede A, Collins P, Knoebl P, Teitel J, Kessler C, Shima M *et al.* International recommendations on the diagnosis

and treatment of acquired hemophilia A. *Haematologica*. 2020;105(7):1791-1801.

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Mingot-Castellano ME, Núñez R, Rodríguez-Martorell FJ. Acquired haemophilia: Epidemiology, clinical presentation, diagnosis and treatment. *Hemofilia adquirida: epidemiología, clínica, diagnóstico y tratamiento*. *Med Clin (Barc)*. 2017;148(7):314-322
- Kruse-Jarres R, Kempton CL, Baudo F, Collins PW, Knoebl P, Leissinger CA *et al.* Acquired hemophilia A: Updated review of evidence and treatment guidance. *Am J Hematol*. 2017;92(7):695-705.
- Bernardo Gutiérrez A. Pruebas básicas de coagulación. En: Soto Ortega I, Álvarez Román MT, editores. *Hemostasia y trombosis en la práctica clínica*. 1ed. Madrid (España): ERGON; 2018. p. 25-40.
- Mingot Castellano ME. Hemofilia adquirida: conceptos básicos y experiencia clínica. En: Soto Ortega I, Álvarez Román MT, editores. *Hemostasia y trombosis en la práctica clínica*. 1ed. Madrid (España): ERGON; 2018. p. 233-252.

20- DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DEL LINFOMA LINFOPLASMOCÍTICO

Autores: Laura Carrasco Parrón, Fernando Calvo Boyero

Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid.

Palabras clave: Macroglobulinemia de Waldenström, Linfoma linfoplasmocítico, Hiperviscosidad

1. INTRODUCCIÓN

La observación al microscopio de la extensión de sangre periférica es fundamental para la orientación diagnóstica de muchas enfermedades hematológicas.

Entre las enfermedades hematológicas que pueden encontrarse en sangre periférica, se hallan las neoplasias linfoides B y T maduras que provienen de las células linfoides de los ganglios linfáticos u otros ganglios linfoides del organismo.

Las neoplasias linfoides de tipo B y T constituyen un grupo heterogéneo de enfermedades con características clínicas y biológicas diferentes, pero en ocasiones compartidas, lo que dificulta el diagnóstico.

2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

Varón de 59 años que acude a médico de Atención Primaria por astenia, dolor torácico y pérdida de peso. El paciente no presenta antecedentes personales previos de importancia ni hábitos tóxicos de interés. Tampoco se conocen antecedentes familiares de interés.

Actualmente, el paciente refiere dolor centrotorácico opresivo de 6 meses de evolución, no irradiado, que cede con el reposo y se acompaña de palpitaciones. Inicialmente se desencadenaba con grandes esfuerzos apareciendo recientemente tras mínimos esfuerzos.

Niega disnea asociada. Además, refiere malestar general con astenia y pérdida de peso de hasta 5 kg en 6 meses. Niega fiebre, tos o expectoración. También presenta epistaxis de 5 días de evolución, así como gingivorragia.

En la exploración física el paciente se encuentra eupneico en reposo, con taquicardia rítmica sin soplos a la auscultación. Abdomen blando y depresible, con ruidos hidroaéreos presentes y normales. No se palpan masas ni megalias.

3. INFORME DEL LABORATORIO

En la analítica solicitada por el médico de Atención Primaria el paciente presentó una hemoglobina de 5,8 g/dL, con volumen corpuscular medio (VCM) normal, de 83,3 fL [82,5-97,9] y una concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) ligeramente disminuida, de 31,4 g/dL [32,6-35,0].

En cuanto a la serie blanca, se encontró una ligera elevación de linfocitos ($4,3 \times 1000/\mu\text{L}$) y una distribución leucocitaria en el scattergrama (Figura 1) sugestiva de existencia de dos poblaciones linfocitarias.

Por estas razones, se decide realizar frotis de sangre periférica. Antes de observar el frotis al microscopio, resultó llamativo el color de la tinción característico de presencia de paraproteína (Figura 2) si lo comparamos con el frotis de otro paciente.

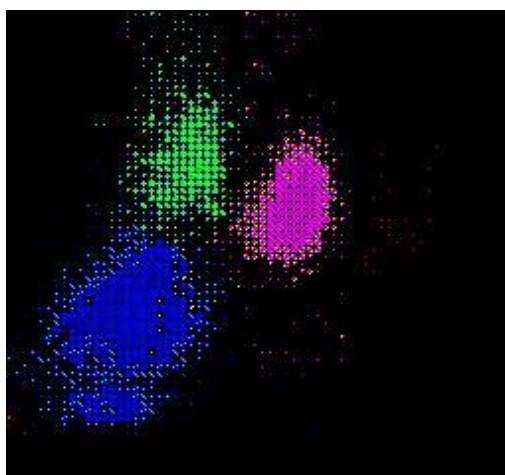


Figura 1. Representación gráfica del diferencial leucocitario del analizador Beckman Coulter DxH 900. Los leucocitos se distribuyen en función de su complejidad, dispersión lateral de luz (eje de las abscisas) y de su volumen (eje de las ordenadas). En color azul se representa la población de linfocitos, en rosa la de neutrófilos en verde los monocitos y en naranja aparecerían los eosinófilos.



Figura 2. Diferencia de coloración tras la tinción con Wright-Giemsa en extensión de sangre periférica con paraproteína (abajo) y sin paraproteína (arriba). Elaboración propia.

En el frotis de sangre periférica se observó marcada presencia de hematíes en “pila de monedas” o *rouleaux* y linfocitos atípicos, monomorfos, con núcleo excéntrico, amplio citoplasma basófilo, algunos de ellos con nucleolo (Figura 3).

4. DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES

Morfológicamente, los hallazgos en sangre periférica sugieren descartar mieloma múltiple (MM) vs. Linfoma linfoplasmocítico (LPL).

El MM es una proliferación clonal de células plasmáticas, que se acumulan en la médula ósea y a nivel óseo, y secretan inmunoglobulinas anormales denominadas paraproteínas.

Su aparición es más frecuente en la edad adulta y avanzada y se caracteriza por la presencia de dolores óseos con lesiones osteolíticas y fracturas patológicas, hipercalcemia y fallo renal. En suero se detecta aumento monoclonal de inmunoglobulinas IgG en un 50% de los casos, e IgA en un 20%. En el 75% de los pacientes, se detecta aumento monoclonal de cadenas ligeras en orina, lo que se denomina proteinuria de Bence-Jones.

El recuento de leucocitos y plaquetas es normal o bajo y suele observarse anemia normocrómica y normocítica. La observación del frotis de sangre periférica muestra los hematíes en *rouleaux* debido al aumento de la concentración de inmunoglobulinas. Ocasionalmente puede verse en sangre periférica alguna célula plasmática con un citoplasma intensamente basófilo y un núcleo excéntrico. Las células plasmáticas del mieloma múltiple son CD38 y CD138 positivas y CD19 negativo.

Por su parte, el LPL es una entidad en la que se asocia una gammopatía monoclonal, o paraproteinemia de tipo inmunoglobulina M (IgM), a una proliferación monoclonal e infiltración de los órganos hematopoyéticos por células de aspecto linfóide o linfoplasmocítico de tipo B. En la extensión de sangre periférica se puede observar con frecuencia la presencia de hematíes en “pilas de moneda” debido al componente M (monoclonal). La cifra de leucocitos suele ser normal y suele apreciarse una moderada anemia normocítica y normocrómica.

El análisis de sangre periférica pone de manifiesto la presencia de monocitosis y eosinofilia. La linfocitosis también es frecuente y los linfocitos tienden a presentar un núcleo excéntrico de cromatina poco condensada y un citoplasma

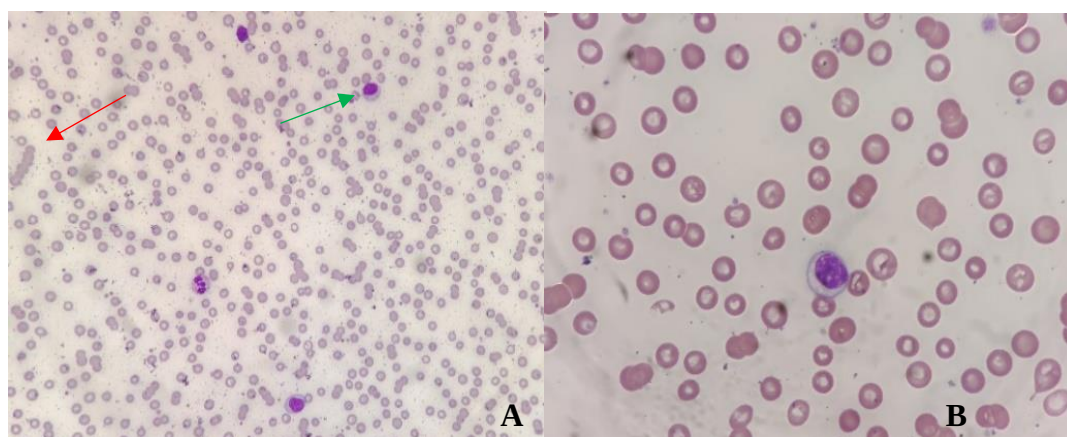


Figura 3. Visión a 40x en microscopio óptico del frotis de sangre periférica donde observamos hematíes en *rouleaux* (flecha roja) y linfocito atípico con núcleo excéntrico (flecha verde) (A). Visión a 100x en microscopio óptico de linfocito atípico con núcleo excéntrico, amplio citoplasma, nucléolo visible (B). Elaboración propia.

amplio y marcadamente basófilo. Las células linfoides del LPL son CD5 negativas.

5. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

Ante estos hallazgos, el paciente fue remitido de manera urgente al Servicio de Urgencias del hospital, donde se amplió el estudio de proteínas mediante electroforesis e inmunofijación en suero y determinación de inmunoglobulinas.

El paciente presentaba 11,1 g/dL de proteínas totales [6,4-8,3] en suero y en la electroforesis de suero se observó banda monoclonal (Figura 4). En cuanto a la inmunofijación, se observaron bandas de precipitación frente a todas las cadenas pesadas y ligeras, y paraproteína IgM kappa. También se realizó estudio de cadenas ligeras libres, resultando una kappa libre en suero de 312 mg/L [3,3-19,4] y un índice Kappa/Lambda libre de 44,38 [0,26-1,65].

También se solicitó estudio de aspirado de médula ósea e inmunofenotipo por citometría de flujo.

Se observó infiltración en sangre periférica y en impronta de cilindro por linfocitos atípicos, con morfología de linfoplasmocito y aumento de células plasmáticas.

En el estudio de inmunofenotipo celular, tanto en sangre periférica como en médula ósea, se observó un 33% de población linfocito B monoclonal kappa, con expresión de CD20+, CD22+, CD25+, CD38-, CD5-, CD10-.

Por último, se realizó estudio molecular y se detectó la mutación L265P en el gen MYD88 mediante PCR en tiempo real. Esta mutación es característica de la macroglobulinemia de Waldenström (MW).

6. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Tras la realización del estudio de proteínas y el inmunofenotipo de sangre periférica y médula ósea, se diagnosticó al paciente de linfoma linfoplasmocítico IgM kappa y macroglobulinemia de Waldenström.

7. EVOLUCIÓN

Se indica recambio plasmático y tratamiento inmunquimioterápico con bendamustina y rituximab en función del aclaramiento de IgM tras el recambio plasmático.

Actualmente el paciente ha recibido el tercer ciclo de tratamiento y presenta buen estado general.

8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

El linfoma linfoplasmocítico es una neoplasia de linfocitos B de pequeño tamaño y células plasmáticas poco común que generalmente afecta a la médula ósea y, con menos frecuencia, al bazo y/o a los ganglios linfáticos. La mayoría de los pacientes con LPL tienen una IgM monoclonal circulante que puede conducir a un síndrome de hiperviscosidad que recibe el nombre de macroglobulinemia de Waldenström.

El LPL representa aproximadamente el 1% de las neoplasias malignas hematológicas en Europa occidental y Estados Unidos. La mediana de edad es de 65 años y el 50-60% de los pacientes son hombres.

La presentación clínica de los pacientes con LPL es variada y puede incluir síntomas relacionados con la infiltración tumoral, como linfadenopatía, organomegalia o citopenias; o con la producción de proteínas monoclonales, como hiperviscosidad o neuropatía. Aproximadamente un tercio de los pacientes son asintomáticos en el momento del diagnóstico, aunque las características de presentación más comunes incluyen debilidad y fatiga, a menudo debido a la anemia. Además, los pacientes con MW pueden presentar diátesis hemorrágica, neuropatía y síntomas secundarios a la hiperviscosidad.

Entre los hallazgos de laboratorio más significativos encontramos:

- En el hemograma, anemia normocítica normocrómica, presente desde estadios iniciales, principalmente de etiología dilucional al incrementarse el volumen plasmático. Generalmente, la cifra de leucocitos es normal con discreta linfocitosis. Los hematíes se presentan aglutinados en "pilas de monedas" o *rouleaux*

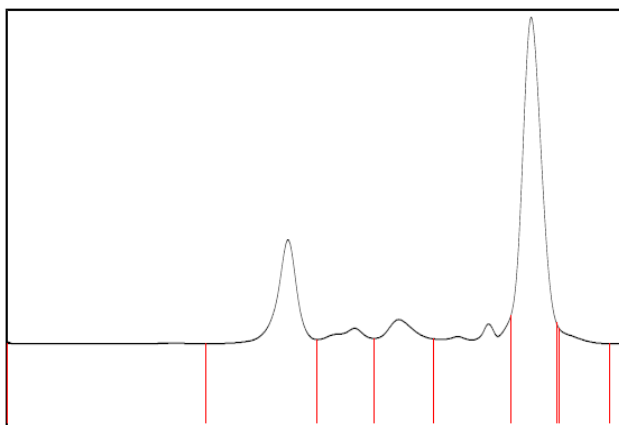


Figura 4. Banda monoclonal en proteinograma de electroforesis de suero.

debido al componente M. La velocidad de sedimentación globular (VSG) se encuentra aumentada debido a la hiperviscosidad plasmática.

- En el aspirado medular y biopsia de médula ósea normalmente se observa una infiltración polimorfa constituida por linfocitos de aspecto maduro, células linfoplasmocitoides y células plasmáticas que no superan el 10% de la celularidad total.
- En el inmunofenotipo linfocitario, las células linfoplasmocíticas van a expresar IgM monoclonal y antígenos de membrana como CD20, CD38, CD19, CD22 y CD79.
- A nivel genético, es frecuente la delección de 6q. También son recurrentes las mutaciones en los genes MYD88 y CXCR4. Así, el estado de mutación somática definirá grupos de tumores con diferentes presentaciones clínicas y tasas de supervivencia.
- En la bioquímica de suero, encontraremos un aumento de las proteínas totales, secundario al incremento de IgM.

Clínicamente, observaremos alteraciones de la hemostasia, como prolongación del tiempo de hemorragia y alteraciones en la agregación debido a la adhesión de IgM a la superficie plaquetaria.

El diagnóstico de LPL se realiza mediante la evaluación anatomopatológica del tejido afectado, por lo general médula ósea o los ganglios linfáticos y se emplea una combinación de hallazgos histológicos e inmunofenotípicos para excluir otras neoplasias linfoides de células B pequeñas con diferenciación plasmocítica como el mieloma múltiple, la leucemia linfocítica crónica, el linfoma de células del manto, el linfoma de la zona marginal o el linfoma folicular.

En cuanto al tratamiento, dado que el 80% de la IgM es intravascular, la plasmaféresis o recambio plasmático es muy efectivo para reducir rápidamente la paraproteína y controlar los síntomas de hiperviscosidad. El tratamiento estándar de primera línea se ha basado durante muchos años en los agentes alquilantes como el clorambucil, el melfalán y la ciclofosfamida, pero con ellos, la respuesta completa es muy rara.

La fludarabina, nucleósido análogo de las purinas, se ha utilizado como primera línea con buenos resultados, así como la cladribina. Tanto los agentes alquilantes como la fludarabina, deben ser evitados si el paciente es candidato a trasplante de progenitores hematopoyéticos.

Por último, rituximab es uno de los medicamentos más utilizados en la actualidad en la MW. La carencia de efectos tóxicos a largo plazo, de impacto en la movilización de progenitores hematopoyéticos periféricos y de efecto mieloablativo ha contribuido a su inclusión en el tratamiento de esta enfermedad. El rituximab, como agente único, puede conllevar a riesgo de un fenómeno conocido como

“llamarada” en el cual se produce un incremento transitorio de las concentraciones de IgM, conduciendo al síndrome de hiperviscosidad y haciendo que se requiera plasmaféresis urgente.

En la actualidad, la mayoría de los pacientes con MW son tratados con quimioterapia combinada con rituximab. La ciclofosfamida, la doxorubicina, la vincristina y la prednisona junto al rituximab (R-CHOP) es un esquema que ha reportado rangos de respuesta de hasta 90%. También se ha realizado un estudio comparativo¹ entre el R-CHOP y la combinación de rituximab y bendamustina, obteniendo respuestas similares en ambos grupos, pero una respuesta más duradera en los casos tratados con bendamustina y rituximab.

En cuanto al pronóstico, el curso clínico del LPL es indolente, con una mediana de supervivencia en el rango de 5 a 7 años.

BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. Rummel MJ, Niederle N, Maschmeyer G, Banat GA, Von Grūnhagen U, Losem C, et al. Bendamustine plus rituximab versus CHOP plus rituximab as first-line treatment for patients with indolent and mantle-cell lymphomas: An open-label, multicentre, randomised, phase 3 non-inferiority trial. *Lancet*. 2013;381(9873):1203–10.

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Merino A. Manual de Citología de sangre periférica y Líquidos Biológicos. 2ed. Madrid: Editorial médica Panamericana. 2019.
- Sheldon J, Riches P. Paraproteins. *CPD Bull Clin Biochem*. 2001;3(2):48–51.
- Ramón-rodríguez LG, Mustelier-celza G, Ávila-cabrera O, González-pinedo L, Gutiérrez-díaz A, Hernández-padrón C. Caso clínico Tratamiento de la macroglobulinemia de Waldenström con R-CHOP. A propósito de un caso. *Rev Hematol Mex* 2012;13(4):201-206.
- Prieto J, Yuste J. El laboratorio en las enfermedades endocrinológicas - ClinicalKey [Internet]. 23th Edition. Bacells. La clínica y el laboratorio. Elsevier España, 2019. 709–759 p.
- Merino A. Diagnóstico diferencial de las células linfoides atípicas en sangre periférica. *Ed Cont Lab Clín* 2013;16:20–40.
- Chen Y, Peterson LC, Marrow B. Chapter 56 Bone Marrow Evaluation for Lymphoma. Second Edition. Hematopathology. Elsevier Inc.; 2021. 1033-1064.e9 p.

BLOQUE V

MICROBIOLOGÍA Y ENFERMEDADES INFECCIOSAS

21-MENINGITIS: NUNCA DIGAS NUNCA

Autores: Ángel Camilo López Regueiro¹, César David Herrera Molina², Daniel Párraga García¹

¹Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

²Servicio de Pediatría, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Palabras clave: Meningitis bacteriana, Recidiva, *E. coli*

1. INTRODUCCIÓN

La meningitis es un proceso agudo causado por microorganismos que inflaman las meninges (duramadre, piamadre y aracnoides). Aunque la etiología más frecuente es vírica, la meningitis bacteriana (MB) constituye una urgencia médica que requiere diagnóstico y tratamiento precoz debido a su importante morbimortalidad. En la mayoría de los casos la MB cursa con líquido cefalorraquídeo turbio o purulento, intensa pleocitosis y predominio de leucocitos polimorfonucleares. Cuatro de cada cinco casos de MB ocurren en la infancia, siendo más frecuente en el grupo de edad comprendido por debajo de los 10 años¹. La edad del paciente pediátrico ayuda a orientar el agente causante del proceso. Por ejemplo, en el período neonatal bacterias como *S. agalactiae*, enterobacterias (especialmente *E. coli*) y *Listeria* son las principales responsables¹.

2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

2.1 Motivo de consulta:

Fiebre en niño con antecedente reciente de meningitis por *E. coli*.

2.2 Antecedentes personales:

El paciente permaneció ingresado en Neonatología durante 39 días con diagnósticos de: ventrículo derecho de doble salida, estenosis de ramas pulmonares, situación de hiperflujo pulmonar, ictericia no isoimmune, hemorragia subaracnoidea occipital izquierda y hemorragia intraventricular, sepsis y meningitis por *E. coli*.

2.3 Antecedentes neonatales, obstétricos y quirúrgicos:

El embarazo fue controlado y se diagnosticó de forma prenatal una cardiopatía conotruncal tipo doble salida del ventrículo derecho, con probable fisiología posnatal de tetralogía de Fallot. Se realizó una cesárea emergente a las 40+6 semanas. Durante el parto la madre presentó fiebre, por lo que se le administró antibioterapia con ampicilina, gentamicina y clindamicina. La puntuación de Apgar para la evaluación del neonato fue de 3/9. El paciente nació sin esfuerzo respiratorio, con latido inferior a 100 pulsaciones por minuto y secreciones en orofaringe. Se aspiraron secreciones y se administró IPPV (*Intermittent Positive Pressure Ventilation*. Respiración artificial controlada por presión) durante menos de 1 minuto, tras lo que comenzó con llanto y aumentó la frecuencia cardíaca por encima de los 100 latidos por minuto, por lo que se suspendió la IPPV.

El pH arterial del cordón umbilical fue 7.14, mientras que el venoso fue 7.21. El peso del recién nacido fue de 3,960 kg.

2.4 Enfermedad actual:

Lactante de un mes acude a Urgencias por fiebre (39,3°C) de 4 horas de evolución el día 8/01/2021 tras ser dado de alta dos días antes de la UCI neonatal. No presenta dificultad respiratoria, ni tos, ni rinorrea ni vómitos. Se refiere que el día anterior al ingreso realizó una deposición líquida de coloración verdosa, realizada con estimulación. Además, se encuentra quejoso y con disminución de la ingesta desde esa mañana. Se señala coloración oscura en labios de nueva aparición. Ante cuadro de fiebre sin foco se realiza test de sepsis (analítica, hemocultivo, sistemático de orina, urocultivo, PCR SARS-CoV-2). Se realiza punción lumbar, con sacarosa oral como analgésico, sin complicaciones y sin medir la presión de apertura, pero observando un goteo rápido, siendo el líquido ligeramente xantocrómico. Se inicia tratamiento con Piperacilina-tazobactam (320 mg/kg/día) + vancomicina (40 mg/kg/día), cubriendo una posible infección nosocomial. Dados los hallazgos en el líquido cefalorraquídeo (LCR) se contacta con Microbiología de guardia para solicitar Gram urgente y esclarecer si pueden ser hallazgos residuales del episodio de meningitis previa. En el gram se observa la presencia de células inflamatorias, sin visualizar gérmenes T. También se realiza PCR multiplex donde se incluyen enterovirus, herpes simple 1 y 2 y bacterias (incluido *E. coli*), obteniendo resultados negativos. Se mantiene mismo tratamiento sin cambios.

2.5 Exploración física:

El triángulo de evaluación pediátrica es estable. El paciente presenta buen estado general y está bien hidratado, nutrido y perfundido, siendo el relleno capilar inmediato. Además, se observa buena coloración de piel y mucosas, sin presentar ni exantemas ni petequias. Tampoco muestra signos de dificultad respiratoria. La fontanela anterior es normotensa.

- Boca: Coloración marronácea en labio inferior, que impresiona de sequedad. No presenta cianosis.
- Faringe: normal.
- Otoscopia bilateral: normal.
- Auscultación cardíaca: rítmica, con soplo sistólico grado II-III/VI (conocido previamente).
- Auscultación pulmonar: buena entrada de aire bilateral y simétrica, sin ruidos sobreañadidos.
- Abdomen: Distendido, blando, depresible, no doloroso a la palpación. No existen masas ni visceromegalias.

PARÁMETROS BIOQUÍMICA (Valores de referencia)	11-dic (ant.)	14-dic (ant.)	8-ene (ingreso)	13-ene	19-ene	25-ene	30-ene
Glucosa (40-70 mg/dL)	<2	1	34	38	36	31	36
Proteínas (0.15-0.45 g/L)	7.28	5.08	2.52	0.58	0.57	0.51	0.81
Hematíes (cél/s/μL)	4747	18	117	8	70	0	2560
Leucocitos (0-10 células/μL)	48114	410	345	3	10	0	10
Polimorfonucleados (%)	85	85	80	-	-	-	-
Mononucleados (%)	15	15	20	-	-	-	-
Xantocromía	LX	LX	LX	LNx	LNx	LNx	LNx
Lactato (1.1-2.4 mmol/L)	-	-	1.8	-	-	-	-

Tabla 1. Evolución de los parámetros bioquímicos de los LCR. Ant.: antecedentes. Elaboración propia

PARÁMETROS MICROBIOLOGÍA	11-dic (ant.)	14-dic (ant.)	8-ene (ingreso)	13-ene	19-ene	25-ene	30-ene
Células inflamatorias	Sí	Sí	Sí	No	Escasas	No	Escasas
Gram	Bacilos Gram (-)	No gérmenes	No gérmenes	No gérmenes	No gérmenes	No gérmenes	No gérmenes
Bacterias	<i>E. coli</i>	Cultivo estéril	<i>E. Coli</i>	Cultivo estéril	Cultivo estéril	Cultivo estéril	Cultivo estéril

Tabla 2. Evolución de los resultados de los LCR según los resultados de Microbiología. Ant.: antecedentes. Elaboración propia

3. INFORME DEL LABORATORIO

En la analítica de Urgencias destaca la presencia de PCR de 10.5 mg/dL con PCT negativa y 18.000 leucocitos. La orina no es patológica. Tras los antecedentes, el ingreso reciente en Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales y la elevación de PCR, se realiza punción lumbar e ingreso con antibioterapia empírica. La evolución analítica de los LCR se muestra en las Tablas 1 y 2.

4. DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES

Sepsis neonatal: La sepsis se define como un estado clínico amenazante para la vida del paciente, desencadenado por una infección generalizada (probada o sospechada) en la que existe una respuesta inflamatoria sistémica desproporcionada que genera disfunción de uno o más órganos vitales. En el período neonatal la sepsis y la meningitis pueden ser indistinguibles. Las pruebas de laboratorio realizadas, tras la obtención de una muestra de

líquido cefalorraquídeo, son claves para diferenciar estas dos entidades y establecer el tratamiento más adecuado.

Meningitis viral: los enterovirus y los herpesvirus son los agentes causales más frecuentes. Se presenta de forma brusca con fiebre y cefalea intensa, que suele acompañarse de vómitos. Para llegar a su diagnóstico, además de la clínica se considera el análisis bioquímico y microbiológico del LCR (Tabla 3).

5. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

Se realiza un RMN cerebral observando focos de hemosiderina y calcificaciones en ambas convexidades superiores, que parecen estar relacionadas con la evolución de la enfermedad previa. También se observa hidrocefalia.

6. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Meningitis Bacteriana Recurrente (*E. Coli*).

	Células (mm ³)	Tipo de células	Proteínas (mg/dL)	Glucosa (mg/dL)
LCR normal	< 10	MN	< 45	35-100
MB	> 1.000	PMN	↑↑	↓↓↓
MV	< 300	PMN (inicial)/MN	Normal/↑	Normal
MTBC	< 1.000	MN	↑↑↑	↓

Tabla 3. Diagnóstico diferencial según las características del LCR (MB: meningitis bacteriana, MV: meningitis vírica, MTBC: meningitis tuberculosa, PMN: polimorfonucleares, MN: mononucleares). Adaptado de Baquero Artigao F, 2011².

7. EVOLUCIÓN

El paciente estuvo ingresado en planta de Infecciosas durante 47 días. Desde su ingreso se pautó antibioterapia intravenosa con meropenem y vancomicina intravenosa, cubriendo una posible recidiva de meningitis hasta el resultado del cultivo microbiológico de LCR. El día 11/01 crece un bacilo gram negativo, por lo que se deja solo meropenem. Al día siguiente se desescala a cefotaxima intravenosa a dosis meníngeas.

Como complicación derivada del cuadro infeccioso, el paciente desarrolla hidrocefalia con dilatación del sistema ventricular y engrosamiento meníngeo. Es valorado de manera conjunta con Neurocirugía pediátrica, que decide el implante de un drenaje ventricular externo (13/01) que se retira el 27/01. Dada la persistencia de ventriculomegalia en RMN y en las ecografías transfontanelares seriadas, se decide implantar una válvula de derivación ventriculoperitoneal permanente (30/01). Ambas intervenciones se realizaron sin incidencias, con buena recuperación posterior.

A pesar de la esterilización rápida del LCR y a que no hubo datos de cerebritis ni absceso en las imágenes (debido a la recurrencia de la infección por el mismo germen y a la visión de meningitis focal en la zona parietal con lesiones de hemosiderina), se decidió mantener antibioterapia intravenosa hasta completar 6 semanas. El paciente experimentó buena evolución clínica con antibioterapia y desde el implante de la válvula de derivación ventriculoperitoneal.

Se mantiene asintomático desde el punto de vista neurológico, con excelente estado general hasta completar pauta antibiótica. Se repite RMN al alta pendiente de informe definitivo al alta. Se observa ventrículos poco dilatados por lo que neurocirugía ajusta la válvula sin alteraciones significativas.

Dada la buena evolución clínica, una vez completadas las 6 semanas de tratamiento antibiótico, se decide alta hospitalaria con seguimiento en consultas.

8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

La MB recurrente es una entidad para la cual, algunos estudios retrospectivos, estiman una prevalencia del 5% del total de meningitis diagnosticadas. Este porcentaje podría ser menor en la edad pediátrica, situándose cerca del 1,5%¹. Los bacilos Gram-negativos (como *E. coli*) tienen un papel patológico inusual fuera del período neonatal como causa de una MB recurrente. Además, en este período los defectos anatómicos, principalmente las fístulas y las malformaciones del tracto urinario, suelen ser la causa de la recidiva del cuadro. Dado los datos aportados sospechar un MB recurrente por Gram negativo puede ser una tarea muy complicada.

Por otra parte, una meningitis parcialmente tratada con antibiótico puede tener un LCR normal o con características poco sugerentes de etiología bacteriana. Pruebas como la PCR en LCR pueden ayudar en Urgencias para orientar la etiología del cuadro, pero es importante saber qué genomas son capaces de detectar. En nuestro caso, hemos presentado un paciente neonatal manejado inicialmente con una antibioterapia correcta para tratar una sepsis (piperacilina-tazobactam + vancomicina) pero no para tratar una meningitis (pues los antibióticos no penetraban lo suficiente en el sistema nervioso central).

Como conclusión podemos establecer que tener en cuenta los antecedentes clínicos del paciente y conocer las limitaciones de las pruebas diagnósticas son aspectos claves para elevar la sospecha de una patología concreta.

BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. Tebruegge M, Curtis N. *Epidemiology, etiology, pathogenesis, and diagnosis of recurrent bacterial meningitis*. Clinical Microbiology Reviews, 2008; 21(3): 519-537.
2. Artigao FB. *Meningitis bacteriana*. Protocolos diagnóstico-terapéuticos de la AEP: Infectología pediátrica, 2011; 47-57

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Tebruegge M, Curtis N. *Epidemiology, etiology, pathogenesis, and diagnosis of recurrent bacterial meningitis*. Clinical Microbiology Reviews, 2008; 21(3): 519-537.

22-MENINGITIS BACTERIANA AGUDA

Autores: Carmen Alhena Reyes Ruiz*; Patricia María Brañas García*; Raúl Recio Martínez.

*Ambas autoras han participado por igual.

Servicio de Microbiología y Parasitología, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid.

Palabras clave: Meningitis, *Streptococcus pneumoniae*, Diagnóstico precoz.

1. INTRODUCCIÓN

Las infecciones del sistema nervioso central (SNC) comprenden: las meningitis (inflamación de las meninges), encefalitis (inflamación del parénquima encefálico asociado a disfunción neurológica) y meningoencefalitis (ambos).

Estas infecciones pueden tener un origen infeccioso, inflamatorio o químico. Cuando se trata de infecciones por microorganismos, la etiología puede ser diversa: bacteriana, vírica, tuberculosa, fúngica o amebiana. Habitualmente los microorganismos que desencadenan la infección provienen de un foco primario cercano como puede ser una otitis, o bien acceden por vía hematogena o nerviosa¹.

Las meningitis se clasifican según el perfil temporal en: agudas si se desarrollan en horas o pocos días, subagudas si evolucionan en menos de cuatro semanas, y crónicas si lo hacen en más de cuatro.

Este capítulo se centra en las sospechas de infección aguda del SNC, aunque el diagnóstico diferencial de las meningitis subagudas y crónicas no difiere sustancialmente de las agudas.

Las meningitis agudas son consideradas emergencias médicas que requieren un diagnóstico precoz y el inicio de antibioterapia empírica lo antes posible, ya que se trata de una enfermedad con una importante tasa de mortalidad, incluso cuando el tratamiento es el adecuado, está en torno al 10-20%. La frecuencia de secuelas neurológicas como la sordera o las alteraciones cognitivo-conductuales, visuales o motoras también es elevada, alrededor del 20-40%.

Epidemiológicamente, los enterovirus (especialmente D68, EV71, *Echovirus* y *Coxsackievirus*) son la etiología vírica más frecuente de las meningitis agudas víricas, sobre todo en niños menores de 5 años y población inmunodeprimida. Las infecciones por enterovirus presentan estacionalidad y son más comunes en los meses de verano. Con menor frecuencia, pueden causar meningitis algunos herpesvirus (virus herpes simple tipo 2 fundamentalmente, virus varicela-zóster, *Citomegalovirus*, virus Epstein-Barr), y con menor frecuencia los virus de las paperas, virus de la coriomeningitis leucocitaria y algunos arbovirus. La distinción entre meningitis y encefalitis se basa en la presencia o ausencia de una función cerebral normal pero muchas veces las manifestaciones clínicas superponen de manera indistinguible, se acuña de esa manera el término meningoencefalitis. Las meningitis asépticas suelen resolverse espontáneamente sin dejar secuelas siempre que

no esté afectado el tejido cerebral (meningoencefalitis). Las encefalitis en cambio, cursan con peor pronóstico y se deben fundamentalmente a infecciones por virus herpes simple tipo 1.

La etiología bacteriana de las meningitis agudas tiene una distribución de frecuencias heterogénea según las edades de la vida, detallándose a continuación los microorganismos más comunes:

- Edad <3 meses: *Escherichia coli* K1, *Streptococcus agalactiae* (grupo B) y *Listeria monocytogenes*.
- Edad 1-23 meses: *Escherichia coli* K1, *S. agalactiae* (grupo B), *Streptococcus pneumoniae* y *Neisseria meningitidis*.
- Edad 2-50 años: *S. pneumoniae* y *N. meningitidis*.
- Mayores de 50 años: *S. pneumoniae*, *N. meningitidis*, *L. monocytogenes* y bacilos gram negativos.

Otra consideración a tener en cuenta es que la epidemiología de las meningitis agudas es diferente en el paciente con una inmunosupresión severa. En esta población, ganan relevancia las infecciones por VIH, *Cryptococcus neoformans* y *Mycobacterium tuberculosis*.

En el entorno hospitalario, los pacientes con derivaciones externas de líquido cefalorraquídeo (LCR) o a un catéter epidural pueden desarrollar meningitis nosocomiales por microorganismos como *Staphylococcus spp*, *Cutibacterium acnes*, enterobacterias, *Pseudomonas spp* o *Candida spp*.

Los programas de vacunación en niños y adultos frente neumococo, meningococo y *Haemophilus influenzae* han conseguido cambiar la epidemiología de la enfermedad en las últimas décadas reduciendo la incidencia de infecciones por estos microorganismos, especialmente de los serotipos vacunales.

2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

2.1 Motivo de consulta:

El paciente es un varón de 55 años que es trasladado a urgencias por el SUMMA por un episodio de alteración neurológica y posterior disminución del nivel de conciencia.

2.2 Antecedentes personales:

Entre los antecedentes personales destacan:

- Diabetes mellitus tipo 2.
- Dislipemia.
- Síndrome de apnea-hipopnea del sueño con presión positiva continua en las vías respiratorias nocturna (CPAP, por sus siglas en inglés).

- Infecciones respiratorias de vías altas, faringoamigdalitis y sinusitis de repetición.
- Ingreso en 2014 por una neumonía adquirida en la comunidad sin filiación microbiológica.

2.3 Antecedentes familiares:

No presenta antecedentes familiares relevantes.

2.4 Enfermedad actual y exploraciones físicas:

Los familiares del paciente refieren que ha presentado tos, otalgia y fiebre termometrada de varios días de evolución en domicilio.

El paciente es atendido en el Servicio de Urgencias con bajo nivel de conciencia en el box vital, donde se procedió a la permeabilización de la vía aérea y a su estabilización hemodinámica. Tras asegurar los accesos venosos, se solicitaron a laboratorio una analítica básica con hemograma, estudio de coagulación y bioquímica con inclusión de proteína C reactiva y procalcitonina.

Se extrajeron hemocultivos, se tomó una muestra nasofaríngea para el cribado de infección por SARS-CoV-2 y se realizó una tomografía computarizada craneal urgente donde se objetivó más tarde edema cerebral sin otras lesiones (Figura 1).

Este hallazgo, junto con la clínica presente, hizo sospechar de una meningitis aguda, por lo que se procedió a pautar antibioterapia empírica con meropenem (1g/8h iv) y vancomicina (1.5g/8h iv) para cubrir una etiología bacteriana acorde a la edad y estado inmunitario del paciente, además de dexametasona para la inmunomodulación de la respuesta inflamatoria. También se pautó levetiracetam 1500 mg/12h por sospecha de crisis convulsiva.

Se realizó a continuación una punción lumbar (PL), prueba crucial para orientar el diagnóstico etiológico de la meningitis y su tratamiento. Se obtuvo un LCR de aspecto turbio que fue enviado a laboratorio para el estudio citobioquímico y microbiológico. Ante la gravedad del cuadro y la necesidad de ventilación mecánica y vigilancia estrecha, el paciente fue trasladado a la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) en estado de coma.

3. INFORME DEL LABORATORIO

3.1 Pruebas del Laboratorio de Análisis Clínicos:

3.1.1 Analíticas en sangre:

En la analítica de urgencias destacó una leucocitosis de 18.900 células/μl con neutrofilia (89,2%), y elevación de proteína C reactiva (24,93 mg/dL) y procalcitonina (15,66 ng/mL).

3.1.2 Citobioquímica del LCR:

Se observó hipoglucorraquia, hiperproteíorraquia, pleocitosis de predominio polimorfonuclear y un lactato elevado (tabla 1).

3.2 Pruebas del Laboratorio de Microbiología:

El LCR enviado al laboratorio de Microbiología, de aspecto turbio a simple vista, se destinó a la realización de tinción de Gram, seguido de un cultivo y de una reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés).

3.2.1 Tinción de Gram del LCR:

Se visualizaron abundantes células inflamatorias y cocos gram positivos en cadenas, concretamente en forma de diplococos (Figura 2). Esta tinción de Gram es compatible con una infección meníngea por *Streptococcus pneumoniae*, agente causal bacteriano más frecuente en el grupo de edad del paciente.

3.2.2 PCR múltiple en el LCR:

La prueba fue orientada a la detección de patógenos bacterianos y víricos más frecuentes causantes de meningitis aguda en el adulto inmunocompetente. El resultado de la prueba fue: detección molecular positiva para *Streptococcus pneumoniae*.

3.2.3 Cultivo de bacterias del LCR:

El cultivo de la muestra original en agar sangre y chocolate fue negativo a las 24h, sin embargo, se pudo aislar *S. pneumoniae* a las 48h gracias a los medios de enriquecimiento empleados. Esto se debe probablemente a que el paciente inició tratamiento antibiótico intravenoso 30 minutos antes de la realización de la punción lumbar, por lo que el crecimiento de este microorganismo se vio dificultado en los medios de cultivo primario.



Figura 1. Tomografía computarizada craneal en urgencias, corte axial. Imagen original.

PARÁMETROS (Valores de referencia)	Resultado
Glucosa (4-70 mg/dL)	<0,1 mg/dL
Lactato (1,1-2,4 mmol/L)	19,9 mmol/L
Proteínas (0,15-0,45 g/L)	7,12 g/L
Hematíes (células/ μ L)	160 / μ L
Leucocitos (células/ μ L) – Polimorfonucleados – Mononucleados	9.840 / μ L – 95% – 5%
Xantocromía	Líquido xantocrómico

Tabla 2. Parámetros bioquímicos del líquido cefalorraquídeo.
Elaboración propia.

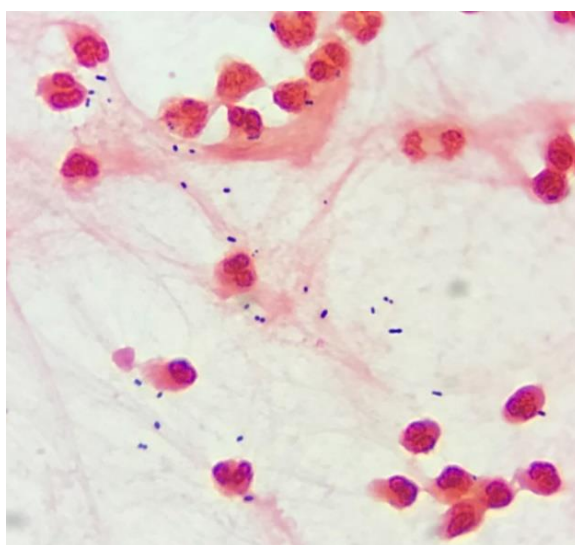


Figura 2. Tinción de Gram en la que se observan células inflamatorias y diplococos gram positivos. Imagen original.

3.2.4 Hemocultivos:

Los hemocultivos extraídos en la urgencia positizaron a las 5,6 horas de incubación, obteniendo así la confirmación definitiva de la etiología bacteriana que demostró la PCR en LCR, *Streptococcus pneumoniae*.

3.2.5 Antibiógrama:

El antibiógrama se realizó por el método disco-placa y E-test a partir de las colonias del hemocultivo positivo, ya que se obtuvo un aislamiento un día antes que en la muestra de LCR. La interpretación del antibiógrama según el comité el *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) para infecciones por *S. pneumoniae* en meningitis se muestra en la tabla 2.

3.2.6 RT-PCR SARS-Cov-2:

El resultado de la prueba de PCR en tiempo real (RT-PCR) fue negativo.

4. DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES

El diagnóstico etiológico debe estar basado en los siguientes criterios:

4.1 Historia clínico-epidemiológica:

En las diferentes edades de la vida los patógenos responsables de infecciones de SNC son diferentes. También influye el estado de inmunosupresión y las vacunas recibidas. Otra consideración a tener en cuenta son los brotes epidémicos (como los brotes de infección por *Listeria monocytogenes*) y los viajes a áreas donde ciertas infecciones se consideran endémicas (por ejemplo, la criptococosis). El contacto reciente con animales, picaduras de insectos o la historia de infecciones de transmisión sexual o infecciones otorrinolaringológicas (ORL) son antecedentes relevantes para contextualizar el cuadro clínico de las infecciones de SNC. Los pacientes con meningitis neumocócica habitualmente tienen focos de infección contiguos (infecciones ORL) o a distancia (siembra hematógena por bacteriemias o neumonías). Algunas patologías subyacentes se consideran factores de riesgo de enfermedad invasiva por bacterias capsuladas, tal como la asplenia, mieloma múltiple, diabetes mellitus, hipogammaglobulinemia, alcoholismo, malnutrición, hepatopatías o nefropatías crónicas y neoplasias malignas².

	C.M.I (mg/L)	Interpretación EUCAST
Penicilina	0,008	Sensible
Cefotaxima	0,008	Sensible
Meropenem	0,002	Sensible
Levofloxacino	1	Sensible a dosis aumentada
Clindamicina	0,064	Sensible
Vancomicina	0,25	Sensible
Trimetoprim /Sulfametoxazol	0,064	Sensible

Tabla 2. Antibiógrama de *Streptococcus pneumoniae* en muestra de hemocultivo.
C.M.I.: concentración mínima inhibitoria. Adaptado del informe original.

4.2 Síntomas:

La clínica de las meningitis bacterianas puede solaparse con los de meningitis causadas por virus, micobacterias, hongos o protozoos. La sintomatología inicial de las infecciones de SNC puede ser variada, entre los síntomas más comunes destacan: fiebre, vómitos, cefalea, meningismo, alteración del nivel de consciencia, convulsiones y rash cutáneo, entre otros. Clásicamente, los síntomas de las meningitis bacterianas incluyen la triada clásica: cefalea, fiebre y rigidez de nuca. El curso de la enfermedad aguda, subaguda o crónica, también está muy relacionado con la etiología infecciosa.

4.3 Pruebas de laboratorio:

La analítica de sangre también puede ayudar a orientar el diagnóstico, por ejemplo, las meningitis bacterianas suelen cursar con leucocitosis a expensas de una neutrofilia y elevación de los reactantes de fase aguda (proteína C reactiva y procalcitonina, fundamentalmente). Otros hallazgos en la analítica, como la presencia de alteraciones de la coagulación, pueden ser sugerentes de meningitis producidas por *Neisseria meningitidis*.

El estudio cito-bioquímico del líquido cefalorraquídeo es una prueba fundamental. Se debe obtener siempre que la punción lumbar se pueda practicar de forma segura en el paciente. La presión de apertura al obtener la muestra, el número y tipo de células presentes en el líquido, y los niveles glucosa y proteínas pueden orientar hacia una meningitis bacteriana, vírica o tuberculosa.

En la tabla 3 se resumen las características analíticas en sangre y líquido cefalorraquídeo que permiten realizar un buen diagnóstico diferencial de las meningitis.

4.4 Pruebas microbiológicas:

La muestra de líquido cefalorraquídeo se puede destinar a numerosas pruebas de microbiología, por ello es muy importante conocer el contexto y la historia clínica del paciente para derivar la muestra, a menudo escasa, a unas pruebas u otras. Las pruebas que se pueden realizar son las siguientes:

4.4.1 Visualización microscópica:

- Tinción de Gram (bacterias y hongos). La sensibilidad de esta prueba es altamente variable (10-93%) dependiendo del microorganismo y de la cantidad del mismo en la muestra. No obstante, es la más rápida, fácil y económica de la que dispone el laboratorio de microbiología (<15 minutos) y puede orientar fácilmente la etiología infecciosa en el caso de visualizar microorganismos.
- Tinción de Ziehl Neelsen o auramina (micobacterias). Bajo la sospecha dirigida de una meningitis tuberculosa, la rentabilidad de esta prueba es baja, ya que es muy poco sensible y es preferible destinar la muestra a cultivo de micobacterias.
- Tinción Giemsa o visualización directa. En caso de sospechas dirigidas de meningoencefalitis por amebas de vida libre u otros parásitos.
- Visualización directa con tinta china. Se puede realizar en casos de sospecha de infección por *Cryptococcus spp.*

4.4.2 Cultivo de bacterias, hongos y micobacterias:

El cultivo del microorganismo es la prueba diagnóstica definitiva que define la etiología de la meningitis. Además, presenta la ventaja de poder realizar el antibiógrama/antifungigrama para dirigir la terapia. El principal inconveniente del cultivo es el tiempo de respuesta (tiempos de incubación entre 1-5 días en caso de bacterias y más prolongados para los hongos y micobacterias). El cultivo de virus es una prueba que precisa de instalaciones y requerimientos exigentes, por lo que en la mayoría de laboratorios ha sido sustituido por otras pruebas más rápidas y sensibles como la PCR.

4.4.3 Detección de antígeno:

Algunos test comerciales están validados para realizar pruebas de aglutinación o de inmunocromatografía específicas de microorganismos.

	Meningitis bacteriana	Meningitis vírica	Meningitis tuberculosa
Proteína C reactiva	40-400 mg/l (↑↑)	<10mg/l	10-100mg/l (↑)
Leucocitos en sangre	10-30*10 ⁹ /μl (↑↑)	4-10*10 ⁹ /μl	5-15*10 ⁹ /μl (↑)
Presión de apertura del LCR en PL	20-50 cm H ₂ O (↑↑)	6-30 cm H ₂ O (↑)	15-40 cm H ₂ O (↑)
Leucocitos en LCR	>1.000 /μl (↑↑)	10-1.000 /μl (↑)	10-1.000 /μl (↑)
Proteínas en LCR	>2 g/l (↑)	<0,06 g/l	1-4 g/l (↑)
Ratio glucosa sangre/LCR	<0,40 (↓)	>0,60	<0,40 (↓)

Tabla 3. Características diferenciales de las meningitis bacteriana, vírica y tuberculosa. PL: punción lumbar. Las flechas (↑↓) indican la alteración del parámetro respecto a la normalidad. Adaptado van de Beek D, *et al.* 2016³.

Por ejemplo, el látex que se utiliza para la detección de *Cryptococcus spp* o el test que se utiliza para la antigenuria de *S. pneumoniae*. Estas pruebas son rápidas (15-20min) pero a menudo poco sensibles, pues dependen de la carga microbiana en la muestra.

4.4.4 Pruebas serológicas:

Tienen aplicabilidad en las sospechas de neurosífilis (V.D.R.L.) o enfermedad de Lyme (detección de IgG).

4.4.5 Técnicas de amplificación molecular de ácidos nucleicos (TAAN):

La PCR a tiempo real es la prueba de amplificación molecular más empleada y extendida en diagnóstico microbiológico molecular. Puede ser dirigida (detección de un patógeno específico por prueba) o múltiple (detecciones simultáneas de diferentes patógenos). Estas pruebas son altamente sensibles y específicas, ofrecen resultados en cuestión de horas y permiten la detección de patógenos en pacientes que ya han recibido dosis antibióticas previas a la punción lumbar. El principal inconveniente lo constituyen los falsos positivos procedentes de contaminaciones y los falsos negativos por cargas bajas del microorganismo en la muestra. Estas situaciones son difíciles de controlar e interpretar en ausencia de otras pruebas. No obstante, existen multitud de pruebas comercializadas sencillas de

realizar que aportan información una rápida y fiable en el contexto clínico adecuado, por lo que cada vez están más extendidas en los laboratorios de Microbiología Clínica.

4.4.6 Otras pruebas microbiológicas complementarias al estudio del LCR:

Al tratarse de enfermedades invasivas, el hemocultivo está indicado solicitarlo en todos los casos de sospecha de meningitis bacteriana.

En la figura 3 se muestra un esquema de actuación ante una sospecha de infección aguda del SNC. En el caso de este paciente, la etiología bacteriana de la meningitis junto con el resto de hallazgos compatibles, hizo posible el diagnóstico definitivo en cuestión de horas desde su llegada a Urgencias.

5. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

5.1 Valoración por otorrinolaringología:

El tercer día de ingreso en UVI el paciente fue sometido a una otoscopia para valorar el posible origen otológico del cuadro meníngeo. La prueba revela una otitis media de oído izquierdo en resolución que no precisa intervención. Este hallazgo es compatible con una otitis como foco primario.

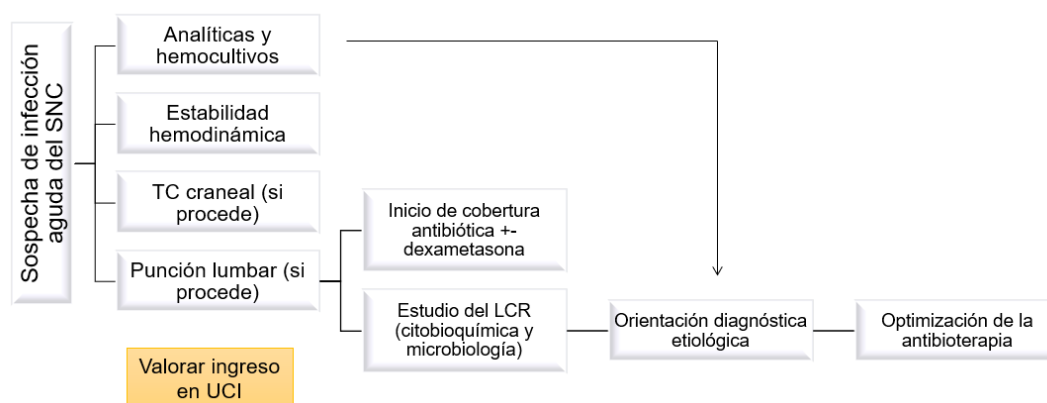


Figura 3. Protocolo de actuación ante una sospecha de infección aguda de sistema nervioso central en el Servicio de Urgencias del Hospital Universitario 12 de Octubre. Adaptado de Suárez Pita D, 2016⁴.

5.2 Resonancia magnética (RMN):

Se realizó RMN que mostró mala evolución neurorradiológica. El informe radiológico reveló meningoencefalitis con empiema frontoparietal bilateral con afectación cortical y algunas zonas subcorticales con encefalitis en lóbulos frontales (Figura 4).

6. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

El diagnóstico definitivo del paciente fue de meningoencefalitis neumocócica complicada con empiema subdural bifrontal con foco primario en otitis media de oído izquierdo, con bacteriemia asociada.

7. EVOLUCIÓN

Tras el diagnóstico etiológico definitivo, se optimizó la terapia antimicrobiana con ceftriaxona y vancomicina. Se mantuvo tratamiento inmunomodulador con dexametasona y tratamiento anticonvulsivo con levetiracetam. Cuando se recibió el informe del antibiograma de *S. pneumoniae* (tabla 2) sensible a betalactámicos, se retiró la vancomicina y se mantuvo el tratamiento con ceftriaxona.

A la semana de ingreso el paciente sufrió un empeoramiento respiratorio con nuevos infiltrados en lóbulo inferior derecho (neumonía nosocomial), por lo que se escaló el tratamiento a meropenem y más tarde se cambió por ceftriaxona y linezolid para cubrir foco neurológico.

En un broncoaspirado se aisló *Burkholderia cepacia* complex, por lo que se añadió al tratamiento levofloxacino. Este microorganismo pudo estar implicado en una infección respiratoria nosocomial (traqueobronquitis o neumonía asociada a ventilación mecánica).

Tras el informe del empeoramiento de la evolución neurorradiológica en la RMN con abscesos subdurales, el paciente fue desestimado por neurocirugía por mal pronóstico neurológico.

A partir de los 10 días de ingreso se suspendió la sedación, se realizó traqueostomía percutánea, y se desconectó de ventilación mecánica la siguiente semana. Se escaló a meropenem por presentar un pico febril y aumento de secreciones respiratorias purulentas.

Tras 30 días de ingreso en UCI, el paciente fue trasladado a la planta de Medicina Interna, donde se retiró la traqueotomía percutánea. Actualmente continúa ingresado y evoluciona favorablemente.

8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

La meningitis aguda sigue siendo una importante enfermedad a nivel global al a pesar de la eficacia de los antibióticos actuales, así como de la disponibilidad de vacunas conjugadas para los tres patógenos meníngeos más comunes. *S. pneumoniae* sigue siendo la etiología más común a nivel mundial y representa aproximadamente el 25-41% de los casos. Este microorganismo coloniza habitualmente la nasofaringe. Entre el 5-10% de los adultos y el 20-50% en niños pueden ser portadores asintomáticos. La enfermedad neumocócica invasiva es más frecuente en niños y en mayores de 65 años.

La prevención de la enfermedad mediante la vacunación es una estrategia eficaz para combatir la morbilidad de las meningitis bacterianas. El riesgo de sufrir una enfermedad invasiva tiene mucha relación con el serotipo capsular de la cepa de neumococo. Actualmente las vacunas existentes para prevenir la infección por *S. pneumoniae* son la polisacáridica 23-valente, disponible desde 1983 y la conjugadas 7-valente desde el año 2000, sustituida más

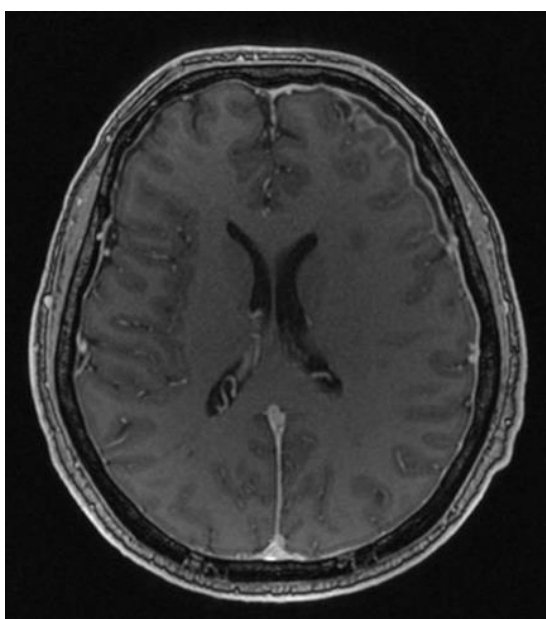


Figura 4. Imagen de resonancia magnética nuclear cerebral, corte axial. Imagen original.

tarde por las 10-valente y 13-valente en 2010. Estas vacunas para niños y adultos cubren >70% de serotipos causantes de infecciones invasivas. En España, la vacunación no ha reducido de forma significativa la incidencia global de la enfermedad, pero si hay una llamativa disminución de los serotipos vacunales en la población infantil. Las meningitis por neumococo, al contrario que las de meningococo o *Listeria sp.*, no ocurren por brotes, sino que son más constantes en el tiempo.

Otra tendencia importante se trata de la aparición de resistencias de *S. pneumoniae* a betalactámicos, que es variable en función de los efectos de la vacuna conjugada, pero constituye un problema de salud mundial. En nuestro medio, la resistencia a betalactámicos es infrecuente. Debido a la capacidad limitada de los betalactámicos para cruzar la barrera hematoencefálica, las definiciones de resistencia actualmente aceptadas consideran el sitio de la infección, la vía de administración del antibiótico y la dosis.

En cuanto a diagnóstico microbiológico, la necesidad de encontrar pruebas que caractericen los microorganismos implicados en infección de una manera rápida y fiable ha permitido que se exploren campos como la detección de patógenos por secuenciación masiva. Esta aproximación diagnóstica se conoce como metagenómica clínica, y su principal objetivo en infecciones del SNC es detectar cualquier microorganismo patógeno (cultivable o no), sin necesidad de dirigir la prueba a microorganismos específicos, y mediante una tecnología analítica fiable⁵. Una gran ventaja de estas pruebas es la posibilidad de descubrimiento de nuevos patógenos emergentes y la detección de resistencias antimicrobianas y factores de virulencia que pueden orientar al clínico para el óptimo manejo del paciente. El empleo de esta tecnología en las meningitis y encefalitis es prometedor desde el punto de vista diagnóstico, pues alrededor del 40-60% de meningitis/encefalitis no se llegan a filiar microbiológicamente. La principal limitación es que hoy por hoy, aún se trata de técnicas complejas de varios días de ejecución, de análisis bioinformático complicado y con costes elevados para una implementación en rutina de laboratorio.

BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. Codina MG, De Cueto M, Echeverría JE, Vicente D. Procedimientos en Microbiología clínica: 36.

Diagnóstico de las infecciones de sistema nervioso central. España, SEIMC; 2010.

2. Van de Beek D, Cabellos C, Dzupova O, Esposito S, Klein M, Kloek AT, et al. ESCMID guideline: Diagnosis and treatment of acute bacterial meningitis. Clin Microbiol Infect. 2016;22 Suppl 3:S37–62.
3. Van De Beek D, Brouwer M, Hasbun R, Koedel U, Whitney CG, Wijdicks E. Community-acquired bacterial meningitis. Nat Rev Dis Prim. 2016;2:16074.
4. Suárez Pita D, Vargas Romero JC, Salas Jarque J, Losada Galván I, De Miguel Campo B, Catalán Martín P, et al. Manual de Diagnóstico y Terapéutica médica 8ª ed. Madrid: Servicio de Medicina Interna Hospital Universitario 12 de Octubre; 2016.
5. Vila J, Bosch J, Muñoz-Almagro C. Molecular diagnosis of the central nervous system (CNS) infections. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2020;39(8):403–410.

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Murray P, Rosenthal K and Pfaller M. Microbiología médica. 8ª ed. España: Elsevier; 2017.
- Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ. Mandell, Douglas y Bennett. Compendio de enfermedades infecciosas. España: Elsevier; 2017.
- Mensa J, Soriano A. Guía de terapéutica antimicrobiana 2021. 30º ed. España: Antares; 2021.
- Agyeman P, Grandgirard D, Leib SL. Pathogenesis and pathophysiology of bacterial infections. En Scheld WM, Whittley RJ, Marra CM, editors. Infections of the Central Nervous System. 4ª ed. 2014.
- Hasbun R. Clinical features and diagnosis of acute bacterial meningitis in adults [monografía en Internet]. Waltham (MA): UpToDate; 2021. Disponible en: <http://www.uptodate.com>
- Tunkel AR, Hasbun R, Bhimraj A, Byers K, Kaplan SL, Scheld WM, et al. 2017 Infectious Diseases Society of America's Clinical Practice Guidelines for Healthcare-Associated Ventriculitis and Meningitis. Clin Infect Dis. 2017;64(6):e34–65.

23-HEMATURIA MACROSCÓPICA EN PACIENTE JOVEN NATURAL DE MALI

Autores: Guillermo Ramos Moreno^{1*}, Irene González Martínez^{2*}, Aitor Delmiro Magdalena²

**Ambos autores han participado por igual.*

¹Servicio de Hematología y Hemoterapia, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

²Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Palabras clave: Hematuria, Parasitosis, Sedimento

1. INTRODUCCIÓN

La orina es una muestra biológica de fácil obtención y constituye un método analítico no invasivo de bajo coste, alta especificidad y elevado valor predictivo.

El urianálisis consiste en la detección semi-cuantitativa, mediante tira reactiva, de diversas sustancias presentes en la orina, y la posterior cuantificación de los elementos formes mediante observación del sedimento. Este análisis permite identificar características relacionadas con distintas patologías como: hematuria, piuria, cristaluria, etc.

La hematuria se define como la presencia de sangre en la orina y puede ser microscópica o macroscópica. Es un signo muy frecuente que puede acompañar a la mayoría de procesos nefrourológicos y aunque en muchos casos la causa es inofensiva, la sangre en orina puede indicar un trastorno grave. En el análisis de laboratorio, se define por la presencia de 3 o más glóbulos rojos por campo con objetivo de gran aumento en el estudio microscópico del sedimento urinario.

Dentro de las causas más comunes de hematuria se encuentran la infección del tracto urinario, la hiperplasia prostática, la urolitiasis e, incluso, la enfermedad neoplásica.

Las parasitosis urinarias no son frecuentes en nuestro medio, pero el incremento de los fenómenos migratorios obliga a incluirlas en el diagnóstico diferencial de la hematuria.

2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

2.1 Motivo de consulta:

Varón de 32 años que presenta dolor abdominal constante de un mes de evolución.

2.2 Antecedentes personales:

El paciente no presenta alergias medicamentosas conocidas ni hábitos tóxicos. Es natural de Mali y reside en España desde hace 11 meses. Presenta un diagnóstico reciente de anemia de células falciformes (hemoglobinopatía SC), con afectación ocular (retinopatía) en seguimiento y tratamiento por Oftalmología, sin tratamiento hematológico en el momento actual.

2.3 Antecedentes familiares:

Desconoce antecedentes familiares.

2.4 Enfermedad actual:

Acude a Urgencias por presentar dolor abdominal constante, no cólico de un mes de evolución, acompañado de episodios de aproximadamente un año de evolución de hematuria al final de la micción.

No presenta náuseas ni vómitos. No refiere síndrome miccional acompañante. No refiere relaciones sexuales de riesgo. No presenta rectorragia ni mucosidad en heces. Tampoco ha presentado fiebre.

Refiere ocasionalmente dolor óseo que se agrava con el frío. No tiene disnea ni tos.

2.5 Exploración física:

El paciente presenta constantes normales y temperatura de 37.7°C, un aceptable estado general y se encuentra consciente, orientado y colaborador. Se observa ictericia conjuntival.

En cuanto a la exploración del abdomen, este se encuentra blando, depresible, doloroso a la palpación difusa en hipogastrio. No hay signos de irritación peritoneal, pero se palpa esplenomegalia.

Se le realiza también un tacto rectal en el que no se palpan fisuras, hemorroides ni hay restos de sangrado activo.

3. INFORME DEL LABORATORIO

En la analítica se objetiva trombocitopenia leve con 121.000 plaquetas, sin anemia y con reticulocitosis (223.2 x1000/μl), así como hiperbilirrubinemia (2.8 mg/dL, similar a previas) a expensas de bilirrubina indirecta, elevación de LDH (316 U/L) sin alteración del perfil hepático y renal y con proteína C reactiva no elevada (0.17 mg/dL). Se realiza sistemático y sedimento urinario en el que se objetiva hematuria (>300 hematíes por campo).

Destacan múltiples urianálisis realizados en el último año con presencia de hematuria macroscópica.

4. DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES

Al tratarse de un paciente joven recientemente trasladado desde Mali, la hematuria macroscópica presenta como posibles etiologías:

- Neoplasia vesical.
- Infecciones bacterianas de las vías urinarias.

- Litiasis renal.
- Glomerulonefritis IgA.
- Necrosis papilar en contexto de crisis vasooclusiva.
- Infección vesical parasitaria.

5. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

En primer lugar, para descartar la existencia de una neoplasia vesical o una posible litiasis renal, se realiza una ecografía del aparato urinario en la que no se encuentran hallazgos significativos más allá de esplenomegalia de 18 cm en su eje mayor. A su vez, se solicita la realización de un urocultivo para descartar una posible infección bacteriana de las vías urinarias que resulta negativo.

Para descartar una posible sospecha de esquistosomiasis se solicita una muestra de orina al paciente en la que se confirma la presencia de hematuria. A continuación, se centrifuga la muestra para la valoración al microscopio óptico del sedimento urinario. La orina se concentra en un portaobjetos con 10 cavidades para la determinación de células por μL en la muestra. En ella se observa la presencia de huevos morfológicamente característicos de *Schistosoma haematobium* (Figura 1).

Como prueba complementaria se solicita serología de *Schistosoma* que resulta positiva.

6. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Ante los resultados de laboratorio junto con el contexto clínico del paciente se llegó a diagnóstico definitivo de esquistosomiasis urinaria.

7. EVOLUCIÓN

El paciente es remitido a consultas de Medicina Interna para tratamiento y seguimiento. Recibe dosis única de Praziquantel (2800 mg, 40 mg/kg) y actualmente continúa seguimiento en consultas.

8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

La esquistosomiasis o Bilharziasis es una enfermedad altamente extendida en los trópicos y considerada endémica en África. Se trata de una helmintiasis producida por trematodos del género *Schistosoma*. Se conocen 7 especies de esquistosomas que afectan al hombre: *S. haematobium*, *S. mansoni*, *S. japonicum*, *S. gineensis*, *S. intercalatum*, *S. mekongi* y *S. malayensis*. Todos ellos producen afectación digestiva, excepto *S. haematobium* que afecta al sistema urinario.

De ellos, los más relevantes son *S. haematobium*, *S. japonicum* y *S. mansoni*.

8.1 Ciclo vital:

El ciclo vital (Figura 2) de estos trematodos comienza con la emisión al agua dulce de los huevos del parásito, ya sea a través de las heces o en la orina. En el agua, estos huevos maduran hasta eclosionar liberando las larvas inmaduras denominadas miracidios. Los miracidios penetran en su hospedador intermediario (caracoles de distinto género según la especie), en el que se desarrollan hasta convertirse en esporocistos y, posteriormente, en la forma infectiva denominada cercaria. Las cercarias son larvas de cola bifurcada que pueden nadar en el agua en busca del hospedador definitivo.

El hombre se infecta a través de la piel intacta tras el contacto con agua dulce encharcada contaminada. Las cercarias penetran a través de la piel, por donde llegan a los capilares y pierden su cola dando lugar a las esquistosómulas, que viajan a la vena porta del hígado, donde maduran hasta convertirse en adultos que, posteriormente, se emparejan y migran para depositar sus huevos en los plexos perivesicales (*S. haematobium*) o en los plexos mesentéricos (el resto de especies de *Schistosoma*). Algunos huevos pueden quedar atrapados en los tejidos, causando reacciones inmunes y daño progresivo a los órganos.



Figura 1. Imagen de microscopio óptico con objetivo 40x de huevos de *Schistosoma haematobium* en orina.

Esquistosomiasis

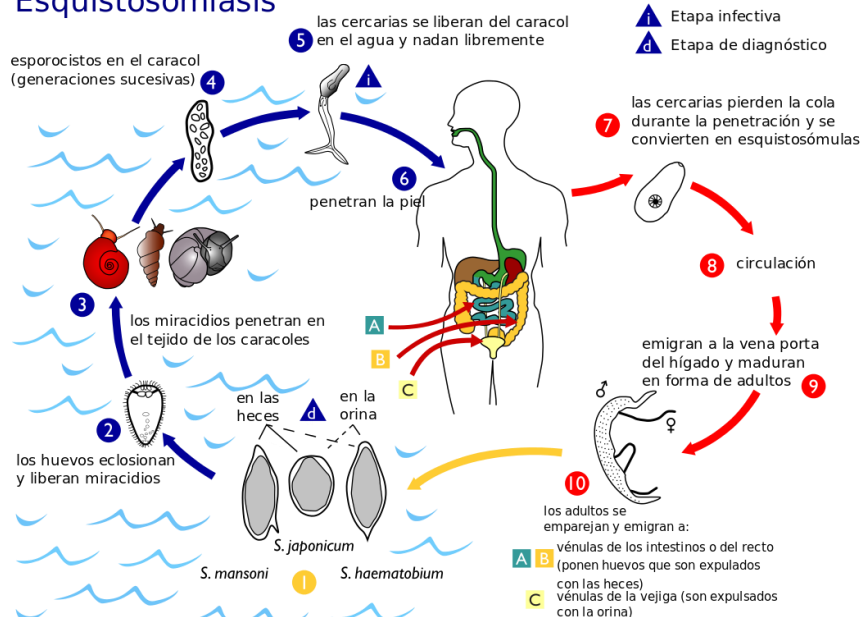


Figura 2. Ciclo vital de *Schistosoma* spp. Obtenido de: <https://www.cdc.gov/dpdx/schistosomiasis/index.html>

8.2 Manifestaciones clínicas:

La mayoría de las personas infectadas no desarrollan una enfermedad sintomática. En general, la enfermedad clínica es causada por la respuesta inmune del huésped a los huevos migratorios.

Las manifestaciones clínicas de la infección se pueden presentar de distintas maneras:

- Esquistosomiasis aguda:

Se observa entre personas que no viven en áreas endémicas, probablemente porque no han desarrollado la inmunidad asociada a la exposición temprana. Las manifestaciones clínicas se presentan entre 2 semanas y 3 meses tras la primoinfección, y son debidas a la reacción de hipersensibilidad sistémica a los antígenos de esquistosoma. La sintomatología incluye fiebre, urticaria, mialgias, cefalea, tos seca, diarrea, dolor abdominal, eosinofilia y aparición de infiltrados en la radiografía de tórax. Es raro que aparezca en pacientes nacidos en áreas endémicas.

- Esquistosomiasis crónica:

Esta forma es más común entre las personas de áreas endémicas con exposición continua. En este caso, el parásito adulto deja de provocar una reacción inmune, aunque los huevos liberados sí son capaces de generar una reacción granulomatosa local. La gravedad de la enfermedad estará relacionada con el número de huevos atrapados en los tejidos, su distribución anatómica, la duración e intensidad de la infección y la respuesta inmunitaria del huésped. Los principales órganos afectados incluyen el tracto intestinal, el hígado, el bazo, el tracto genitourinario, los pulmones y el sistema nervioso central.

8.3 Diagnóstico de esquistosomiasis:

Los métodos de identificación de parásitos en muestras biológicas se han basado clásicamente en la observación de

la morfología de las diferentes especies parasitarias. Sin embargo, en el momento actual, existen numerosos métodos de laboratorio disponibles para el diagnóstico de este tipo de infecciones, pero la microscopía continúa siendo el “gold standard” para la identificación de la mayoría de los parásitos, aunque se dispone de otras técnicas como los test serológicos, la detección de ácidos nucleicos o métodos basados en el cultivo que pueden ser útiles.

En el caso de *Schistosoma* sp., el diagnóstico se realiza mediante la observación de los huevos en heces u orina. Se pueden emplear técnicas de concentración de los huevos como la de formalina-acetato de etilo, aunque también se pueden emplear test serológicos. Los huevos de *S. mansoni* son grandes, con un espolón lateral cerca del extremo posterior, los de *S. japonicum* son más redondeados y presentan un espolón menos sobresaliente y los de *S. haematobium* son grandes y presentan un llamativo espolón terminal.

9. CONCLUSIONES

El Laboratorio de Urgencias tiene un papel esencial en la orientación al diagnóstico de multitud de patologías, lo que permite actuar con rapidez a la hora de tomar decisiones sobre la evolución de los pacientes.

En este caso, ante la presencia de hematuria persistente en paciente joven natural de Mali, la sospecha de parasitosis urinaria pudo confirmarse en pocas horas gracias al análisis del sedimento urinario. Esto permitió el inicio inmediato del tratamiento y el alta del paciente del Servicio de Urgencias que continuó el seguimiento en las consultas de Enfermedades Infecciosas de forma ambulatoria. Posteriormente, el Servicio de Microbiología, confirmó los resultados aportados completando el estudio.

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Clerinx J, Soentjens P. Schistosomiasis: Epidemiology and clinical manifestations. UptoDate. 2021;1–27. Disponible en: <https://www.uptodate.com/contents/schistosomiasis-epidemiology-and-clinical-manifestations>.
- McManus, D. P., Dunne, D. W., Sacko, M., Utzinger, J., Vennervald, B. J., & Zhou, X.-N. (2018). Schistosomiasis. Nature Reviews Disease Primers, 4(1).
- Centers for Disease Control and Prevention. (2019, August 14). CDC - dpdx - schistosomiasis infection. Centers for Disease Control and Prevention. Retrieved January 18, 2022. Disponible en: <https://www.cdc.gov/dpdx/schistosomiasis/index.html>

BLOQUE VI

MISCELÁNEA

24- DESARROLLO Y EXPLOTACIÓN DE UNA BASE DE DATOS DE VARIANTES DEL ADN MITOCONDRIAL PROPIA (12OVAR-MITOCONDRIAL) EN EL ENTORNO DEL HOSPITAL 12 DE OCTUBRE

Autores: José Miguel Lezana Rosales¹, Alberto Blázquez Encinar², Miguel Ángel Martín Casanueva²

¹Servicio de Genética. Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid.

²Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos. Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid.

Palabras clave: ADN mitocondrial, Enfermedades mitocondriales, Base de datos

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades debidas a mutaciones y reorganizaciones en el ADN mitocondrial (ADNmt) que causan un parte de las enfermedades metabólico-hereditarias conocidas como enfermedades mitocondriales del sistema de fosforilación oxidativa (OXPHOS) o de la cadena respiratoria mitocondrial (CRM), se conocen desde 1988. El resto de enfermedades primarias del OXPHOS están causadas por genes del ADN nuclear (ADNn) que codifican proteínas estructurales del OXPHOS o proteínas de múltiples vías metabólicas necesarias para su correcta función y biogénesis. Además, otras variantes identificadas en el ADNmt han proporcionado una nueva perspectiva sobre la etiología de las enfermedades metabólicas y degenerativas comunes, el cáncer y el envejecimiento¹.

El ADNmt codifica 37 genes: 13 que codifican subunidades de los complejos I, III, IV y V del sistema OXPHOS (el complejo II posee 4 subunidades codificadas por el ADNn), y 24 que son necesarios para su traducción^{2,3}.

- 7 (ND1, ND2, ND3, ND4, ND4L, ND5 y ND6) de los 45 polipéptidos del complejo I.
- 1 (CYB) de los 11 polipéptidos del complejo III.
- 3 (CO1, CO2I y CO3) de los 13 polipéptidos del complejo IV.
- 2 (ATP6 y ATP8) de los 18 polipéptidos del complejo V2.
- 22 ARNt mitocondriales.
- 2 ARN ribosómicos (ARNr), 12S y 16S para la síntesis de proteínas mitocondriales.

El ADNmt se encuentra presente en cientos e incluso miles de copias en las células³. Se transmite por herencia materna, es decir, la madre transmite el ADNmt a sus hijos e hijas, y solo las hijas transmiten el ADNmt a su descendencia^{4,5} y tiene una tasa de mutaciones mucho más elevada que el ADNn⁶⁻⁸.

Al poseer las mitocondrias de las células varias copias del ADNmt y existir numerosas mitocondrias en cada célula, hace que se presenten multitud de copias de ADNmt en cada célula, tejido u órgano, cuyo número es variable y depende en gran medida de las necesidades de energía de ese tejido

u órgano. Así, cuando existe una mutación patogénica en un gen del ADNmt puede encontrarse en todas las copias del ADNmt (homoplasmia), o únicamente en un número determinado de ellas (heteroplasmia o nivel de carga mutacional). Cuando se habla de mutación heteroplásmica quiere decirse que existen varias copias del ADNmt con la mutación y varias copias del ADNmt “normales, sin la mutación”) en una célula, tejido u órgano. Otra característica del ADNmt es la “segregación mitótica” por la cual las mitocondrias de una célula en cada división celular se reparten en las células hijas aparentemente al azar. Por ejemplo, una célula que tuviera un 60% de copias ADNmt con la mutación, cuando se divide puede dar lugar a células hijas con cargas mutacionales muy diferentes que pueden incluir desde células sin la mutación hasta células con todas las copias con la mutación (homoplásmicas), o células con diferentes grados de heteroplasmia. Es por ello que las células y los diferentes tejidos y órganos de un paciente pueden presentar cargas mutacionales (niveles de heteroplasmia) muy diferentes. Además, este proceso ocurre con más intensidad durante el desarrollo y maduración de las células sexuales femeninas hasta la generación del óvulo, por el llamado “efecto de cuello de botella mitocondrial”, lo que hace que en una mujer que presenta una mutación heteroplásmica en el ADNmt cada óvulo que genere pueda presentar una carga mutacional muy diferente y prácticamente impredecible.

Por otra parte, en las mutaciones en el ADNmt ocurre el “efecto de umbral fenotípico”, que se refiere al mínimo porcentaje de heteroplasmia de una mutación determinada que es necesario superar en un tejido u órgano específico para que se manifiesten síntomas. Habitualmente, los tejidos que necesitan mucha energía (por ejemplo el cerebro o el músculo) tienen un umbral fenotípico bajo (se ven afectados con niveles de heteroplasmia menos elevados) respecto a los que tienen menos necesidades energéticas (hígado, riñón); siempre teniendo en cuenta que este efecto es muy dependiente de cada mutación particular.

En general, se ha estimado para las enfermedades mitocondriales una prevalencia de 5–15 casos por cada 100,000 individuos⁹. En un reciente estudio en España a nivel nacional¹⁰ se estimó una incidencia en casos por millón

de habitantes (95% intervalo de confianza) para las enfermedades genéticas mitocondriales, tanto del ADNmt como del ADNn, para el periodo 2014–2020 de 2.30 (2.14–2.47), con un valor en la edad pediátrica de 6.34 (5.71–6.97) y en la edad adulta de 1.36 (1.22–1.50); y se observó una tasa de incidencia global similar entre las enfermedades debidas a ADNn y al ADNmt: 1,14 (1,02–1,25) y 1,16 (1,05–1,28), respectivamente, y que en general los pacientes pediátricos se vieron afectados con mayor frecuencia que los adultos, especialmente por mutaciones en genes del ADNn, y sin embargo, la incidencia en adultos fue levemente menor que en pacientes pediátricos para las mutaciones de ADNmt.

La aproximación clásica al diagnóstico de enfermedades mitocondriales se basaba en la integración de datos clínicos, histopatológicos y bioquímicos y el estudio de unas pocas alteraciones genéticas (mutaciones más frecuentes en el ADNmt y mutaciones en regiones “hot spot”, asociadas a síndromes clásicos de ADNmt) mediante técnicas de genotipado (PCR-RFLP o Minisequenciación, entre otros) o secuenciación Sanger. La biopsia muscular es el tejido central por sus características bioenergéticas y accesibilidad, y porque permite realizar estudios histoquímicos mitocondriales y estudios enzimáticos de CRM.

Con el desarrollo de métodos basados en la secuenciación masiva (NGS), la identificación de nuevos genes y mutaciones en enfermedades mitocondriales ha aumentado exponencialmente, por lo que el flujo diagnóstico y guías de consenso han cambiado drásticamente. Actualmente se aconseja como primera línea de actuación el diagnóstico genético mediante métodos de secuenciación masiva que analicen los genes asociados a patología mitocondrial en ADN de sangre o de sedimento urinario antes de plantear otras herramientas diagnósticas más invasivas. Sin embargo, algunas lesiones moleculares del ADNmt como deleciones, mutaciones somáticas o depleción (pérdida cuantitativa de moléculas de ADNmt) deben estudiarse en tejido muscular, hepático u otro que presente los síntomas pues es donde se expresa la lesión, con métodos como *Southern-Blot*, *PCR larga* o *Real-Time PCR*.

Existen varios repositorios de variantes patogénicas y polimorfismos en el ADNmt que integran datos de secuenciación Sanger y NGS, provenientes tanto de estudios poblacionales como de pacientes con patología mitocondrial. Uno de los más relevantes en el ámbito mitocondrial es *MITOMAP*¹¹. También son muy usadas, por ejemplo, las bases de datos específicas *mtDB* (*Human Mitochondrial Genome Database*)¹², *mtSNP Database*^{13,14} y *HelixMTdb*¹⁵.

2. DESARROLLO DE 12OVAR-MITOCONDRIAL

En el Servicio de Genética, con la participación del Laboratorio de Enfermedades Mitocondriales del Servicio de Bioquímica, se ha introducido recientemente la captura y secuenciación por NGS del ADNmt de manera simultánea al ADNn. De esta manera es posible el análisis del exoma añadiendo las variantes del ADNmt. Como consecuencia se ha modificado el *pipeline* de análisis del Servicio (*KarMa*), añadiendo un nuevo *script* que permite el tratamiento de estas nuevas variantes y la generación de una base de datos a partir de las mismas (*12OVAR-Mitocondrial*).

Esta base de datos ha de ser escalable, ya que es necesaria su ampliación sucesiva con nueva información de cada uno de los pacientes que se analicen por dicho *pipeline*. *12OVAR-Mitocondrial*, a su vez, se integrará en la base de datos general que gestiona la aplicación de análisis genético del Servicio de Genética (*JNOMICS*).

El esquema de trabajo seguido para generar los resultados del análisis del ADNmt y gestionar *12OVAR-Mitocondrial* puede seguirse según lo esquematizado en la Figura 1.

Más detalladamente el proceso comienza con la descarga de los archivos de anotación de variantes:

- **Mitomap**: Se trata de archivos correspondientes a frecuencias de las variantes, asociación de variantes a enfermedades, locus y scores según *Mitotip*¹⁶.
- **Mitlmpact**^{17,18}: Es un archivo circunscrito a variantes no sinónimas en regiones codificantes. Contiene la nomenclatura de variantes, anotaciones de múltiples predictores de patogenicidad, datos de conservación, etc.
- **HelixDB**: En él aparecen las frecuencias de las variantes según esta base de datos, desdoblándose cuando son homoplásmicas o heteroplásmicas.
- **dbSNP**¹⁹: Contiene la asociación de las variantes con su identificador *rs*.
- **ClinVar**²⁰: Incluye, entre otros datos, el identificador de cada variante, la enfermedad/enfermedades con las que se asocia, cómo está clasificada la variante, con qué grado de respaldo por parte de la comunidad científica está hecha esta clasificación, etc.

Posteriormente se diseñó un *script* en *bash* que se integró en *KarMa*. Este *script* permite la realización de los siguientes pasos:

- Pre-tratamiento de los archivos de anotación previamente descargados. Estos archivos se armonizan para que queden con una estructura de *VCF* estandarizada para el paso en sí de anotación.
- Anotación secuencial de los *VCF* de los pacientes, empleando los anteriores archivos, mediante *BCFtools*²¹. En el caso de la anotación de los *locus*, como los hay solapantes, se empleó *BEDtools*²². Se generan los archivos (*Res1*, *Res2*, *Res3*... *ResN*).
- Conversión de los archivos resultantes (en formato *VCF*) a ficheros de texto con las cabeceras correspondientes a cada columna de anotación.
- Adición de los *VCFs* de los pacientes a un *VCF* general (*VCF-12OVAR-Mitocondrial*), para la actualización de frecuencias y suma de nuevas variantes si las hubiera (*VCF-12OVAR-Mitocondrial-actualizado*). Este archivo también se emplea como fuente de anotación de los *VCFs* de los pacientes, para añadirles la frecuencia de aparición en nuestro centro.
- Conversión de *VCF-12OVAR-Mitocondrial-actualizado* a un fichero de texto (*Res 12OVAR-Mitocondrial*) que tiene las cabeceras correspondientes a cada columna de anotación, para componer la base de datos de

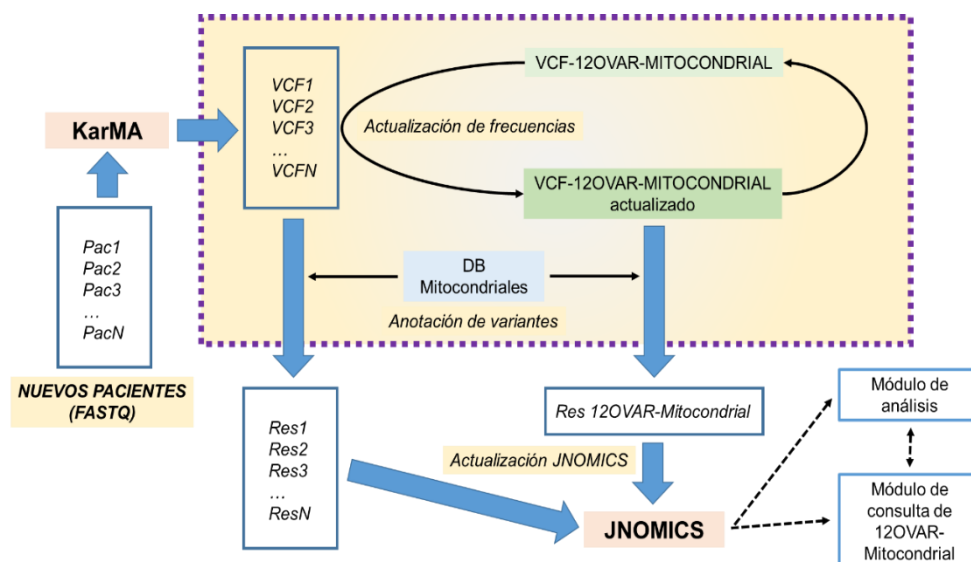


Figura 1. Esquema general del procedimiento de generación de archivos de resultados por paciente y actualización de 12OVAR-Mitocondrial. El fichero VCF³⁹ de base de datos (VCF-12OVAR-Mitocondrial) actualiza sus frecuencias con cada uno de los VCF de los pacientes que se procesan con KarMa. Posteriormente, este archivo (VCF-12OVAR-Mitocondrial-actualizado) y los archivos VCFs de los pacientes se anotan con diferentes bases de datos para dar lugar al fichero Res 12OVAR-Mitocondrial y a los diferentes archivos de resultados de los pacientes (Res1, Res2, Res3... ResN). Tanto Res 12OVAR-Mitocondrial como Res1, Res2, Res3... ResN serán analizables desde JNOMICS, ya sea paciente a paciente a través del módulo de análisis o en forma global gracias a un módulo diseñado al efecto.

variantes mitocondriales propiamente dicha (12OVAR-Mitocondrial).

El archivo VCF-12OVAR-Mitocondrial-actualizado constituirá el VCF-12OVAR-Mitocondrial en un nuevo ciclo de procesamiento. Una vez terminado el procesamiento, se lleva a cabo la subida de los archivos de resultados (Res1, Res2, Res3... ResN) y de Res 12OVAR-Mitocondrial-actualizado a JNOMICS. Estos archivos de texto se integran dentro de la base de datos general *mysql* de la que se nutre JNOMICS.

3. EXPLOTACIÓN DE LAS VARIANTES EN JNOMICS

Una vez actualizada la base de datos que respalda JNOMICS, los resultados estarán disponibles para su interpretación, que puede hacerse a partir de una doble vía: la del paciente de manera aislada (módulo de análisis) y la del conjunto de la base de datos de variantes mitocondriales, a partir de un módulo desarrollado *ad-hoc* que permite la evaluación de 12OVAR-Mitocondrial.

3.1 Módulo de análisis:

En el módulo de análisis, las variantes mitocondriales asociadas al paciente aparecerán solamente si cumplen los siguientes criterios de autoclasificación (no son excluyentes):

- Aparecer clasificadas en ClinVar como patogénicas o probablemente patogénicas.

- Aparecer clasificadas en Mitomap dentro de la categoría "Cfrn"²³⁻²⁶.

Estas variantes podrán añadirse al informe genético final del paciente si el genetista considera que las variantes, efectivamente, son de interés clínico tras una valoración pormenorizada empleando otras fuentes de conocimiento.

3.2 Módulo de visualización de 12OVAR-Mitocondrial:

Se desarrolló un módulo en la aplicación JNOMICS para la consulta de 12OVAR-Mitocondrial, empleando para ello los lenguajes de programación HTML, PHP y JavaScript.

En este módulo existe una página principal en donde se pueden filtrar de manera personalizada las variantes presentes en 12OVAR-Mitocondrial. Se pueden filtrar de manera acumulativa, pudiendo obtener variantes que cumplan más de un criterio (Figura 2). Los filtros disponibles son:

- Gen(es).
- Tipo de gen(es).
- Estatus de clasificación de la variante en ClinVar.
- Nombre de la enfermedad o condición en MitoMap.
- Estatus de clasificación en MitoMap.
- Frecuencias por base de datos: pudiendo establecer puntos de corte para las bases de datos de variantes de MitoMap, HelixDB y 12OVAR-Mitocondrial.
- Identificador rs en dbSNP.

12OVAR MITOCONDRIAL

Bienvenido a la Base de datos de variantes mitocondriales. Puedes filtrar las variantes a partir de diferentes parámetros, los cuales puedes emplear de manera acumulativa (AND). A día de hoy, la base de datos se compone de **377** pacientes y un total de **1513** variantes. Pulsa para ver las [estadísticas de la base de datos](#).

SELECCIONA PARÁMETROS PARA FILTRAR

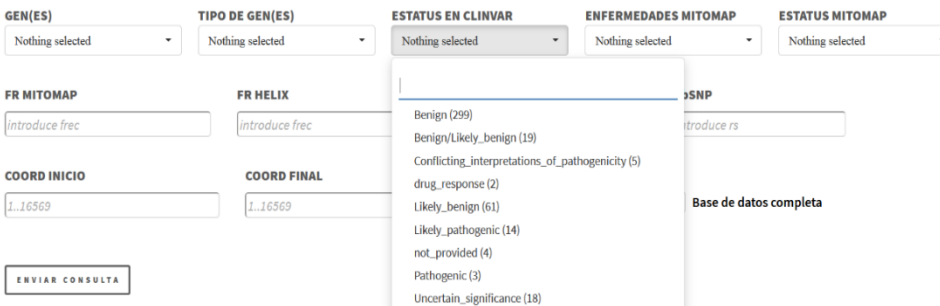


Figura 2. Página de filtrado de variantes. En algunos criterios de filtrado se pueden seleccionar simultáneamente varias opciones, sabiendo a priori cuántas variantes los cumplirían.

- Coordenadas de inicio y de final.
- Posibilidad de ver todas las variantes presentes en *12OVAR-Mitocondrial* sin ningún criterio de filtrado.

En la tabla resultante (valga como ejemplo lo representado en la Figura 3) aparecen las variantes caracterizadas por coordenadas, nomenclatura, datos de los predictores, frecuencias en las diferentes bases de datos (*Mitomap*, *HelixDB* y *12OVAR-Mitocondrial*), patologías con las que están potencialmente relacionadas, estatus de la variante en *Mitomap*, identificador *rs*, clasificación según *ClinVar* y *Mitomap*, qué pacientes la poseen, clasificación propia y si existen o no *warnings* de calidad en la detección (variantes que no son *PASS* en el *VCF* de origen).

A partir de esta tabla es posible acceder mediante enlaces a diferentes recursos relacionados con las variantes:

- UCSC²⁷.
- Varsome²⁸.
- Mitomap.
- dbSNP.
- ClinVar.

Además, se puede visualizar qué pacientes poseen la variante (si esta no es muy frecuente), si son o no heteroplásmicas, una breve descripción clínica del paciente y un *link* para un análisis más pormenorizado de la variante y ponerla en contexto con la clínica del paciente que la posee. Cabe decir que la tabla resultante del filtrado se pueden seguir filtrando a partir de las columnas gracias al empleo de una librería *DataTable*²⁹ que gestiona las tablas *HTML*.

Además, existe una segunda página en la que se pueden filtrar las variantes particulares del paciente de una manera análoga a la explicada anteriormente. La diferencia con la página principal es que aparecen columnas con información adicional:

- *Comentarios*: apuntes que quiera hacer el usuario al respecto de la variante.
- Filtro del *VCF* (*PASS*, *SB*, *LowDepth*...).
- Porcentaje de heteroplasmia.
- Cobertura.
- Descripción pormenorizada del gen.
- Enlace a *PubMed* en el caso de que existan publicaciones relacionadas con esta variante.
- *ClinVarID* con enlace a la entrada de la variante en esa base de datos.

También en esta segunda página se puede ver la información clínica completa del paciente y acceder a su informe genético, existiendo la posibilidad de determinar su haplogrupo mediante un *link* a *Haplogrep*³⁰.

Por último, es posible visualizar las estadísticas generales de *12OVAR-Mitocondrial* a través de un enlace al efecto, que nos lleva a una página específica (Figura 4) en la que se pueden ver:

- Tipo de variantes detectadas y su número.
- Clasificación de las variantes en *ClinVar* (cuando exista) subdividida en clases y número de variantes en cada clase.
- Número de variantes por gen.
- Cuántas variantes hay por corte de frecuencia poblacional.
- Distribución de edades de los pacientes.
- Número de pacientes que conforman la base de datos, actualizado mes a mes.

RESULTADOS DE LA BÚSQUEDA

PARÁMETROS DE FILTRADO EMPLEADOS:

Coordenada de inicio: 6000 & Coordenada de fin: 8000 & ClinVar: Benign, Benign/Likely_benign & Estatus Mitomap: Reported.

VARIANTES SELECCIONADAS: 12 / 1513

RESETEA LA BÚSQUEDA

?	Copy	CSV	Excel	PDF	Print	Search:						
Chr	Start	Ref	Alt	Gen	Tipo de gen	Nomenclatura M	Nomenclatura P	Predictores	Score (Mitotip)	Fr Mitomap	Fr Helix (hmp)	Fr Helix (htp)
Chr	Start	Ref	Alt	Gen	Tipo de gen	Nomenclatura M	Nomenclatura P	Predictores	Score (Mitotip)	Fr Mitomap	Fr Helix (hmp)	Fr Helix (htp)
MT	6150	G	A	MT-CO1	codificante	m.6150G>A	p.V83I	23.08% (6/26)	.	0.44	0.197	0.0056
MT	6253	T	C	MT-CO1	codificante	m.6253T>C	p.M117T	23.08% (6/26)	.	1.03	0.5087	0.0036
MT	6261	G	A	MT-CO1	codificante	m.6261G>A	p.A120T	26.92% (7/26)	.	0.72	0.7659	0.0153
MT	6267	G	A	MT-CO1	codificante	m.6267G>A	p.A122T	34.62% (9/26)	.	0.16	0.1679	0.0138
MT	6285	G	A	MT-CO1	codificante	m.6285G>A	p.V128I	26.92% (7/26)	.	0.23	0.0765	0.0041

Fr 12OVar	Enfermedad (Mitomap)	Estatus enfermedad (Mitomap)	dbSNP151	ClinVar (significado clínico)	ID pacientes	12O_class	Warnings (%)
Fr 12OVar	Enfermedad (Mitomap)	Estatus enfermedad (Mitomap)	dbSNP151	ClinVar (significado clínico)	ID pacientes	12O_class	Warnings (%)
0.265252 (1/377)	Prostate-Cancer/-enriched-in-POAG-cohort	Reported	rs879053914	Benign	hm-21NG1676(ESTUDIO DE ADPKD...)	N/C	100
0.530504 (2/377)	Prostate-Cancer/-enriched-in-POAG-cohort	Reported	rs200165736	Benign	hm-21NG1536(19 meses.		0
0.265252 (1/377)	Prostate-Cancer/-LHON	Reported	rs201262114	Benign/Likely_benign	Talla baja, dificultad aprendizaje, hipospadias,narinas antevertidas. Pabellones auriculares discretamente hacia atrás. AP de osteopenia con fracturas patológicas.		0
0.265252 (1/377)	Prostate-Cancer	Reported	rs202216551	Benign	hm-21NG1665(Talla baja, dificultad ap...)	N/C	NO
0.795756 (3/377)	Prostate-Cancer	Reported	rs878947044	Benign	hm-21NG1839(Paciente con anemia hemol...) hm-21NG1907(Mujer de 56 años. Extens...)	N/C	Sube

Figura 3. Muestra de variantes resultantes tras la aplicación de un filtro que selecciona: variantes que estén entre las coordenadas 6000 y 8000 del genoma mitocondrial, que además sean *Benign* o *Benign_likely/Benign* según *ClinVar* y que tengan estatus “*Reported*” en *Mitomap*. Existen 12 variantes de las 1513 de la base de datos que reúnen esas características.

4. CASOS CLÍNICOS

A partir de la introducción del análisis del ADNmt en la rutina diagnóstica se detectaron 4 variantes de interés clínico.

2.1 CASO 1:

1.1.1 Descripción clínica:

Niña de 2 años y 1 mes, que presenta Síndrome de Leigh. El cuadro clínico se inició a los 13 meses con desviación de ojo izquierdo y sospecha de estrabismo. En torno a los 14 meses presentó un cuadro de hipertensión y temblor sin pérdida de conciencia de segundos de duración, que al repetirse acuden al hospital de referencia donde la ingresan e inician los estudios. A los 18 meses desarrolló episodios de temblor cefálico y de tronco sin aparente desconexión del medio (1-2 min de duración), sin relación con el sueño, el ayuno u otros factores. Además, presenta desde el inicio del proceso un estrabismo divergente del ojo izquierdo, con midriasis arreactiva y ptosis, afebril y sin antecedentes de cuadro infeccioso.

1.1.2 Hallazgos moleculares:

Se detectó la variante *MT-ND5*: m.13042G>A (p.A236T) con una heteroplasma del 77% a una profundidad de 60X en

ADN de sangre. Además, en este caso, se secuenció previamente en el Laboratorio de Enfermedades Mitocondriales el ADNmt obtenido de biopsia de músculo esquelético a alta profundidad. Se detectó la misma variante con un grado de heteroplasma del 88% con una profundidad de 400X.

1.1.3 Apuntes del caso:

La variante se ha descrito en heteroplasma como patogénica asociada a diferentes fenotipos: *MELAS-MERFF*, Retinopatía, cataratas y neuropatía óptica *LHON-like* y Síndrome de Leigh^{31–33}. Con estas evidencias se consideró que la variante podría ser responsable del fenotipo clínico de la paciente (con fenotipo bioquímico de cadena respiratoria en músculo que mostró valores normales de Complejo I pero cercanos al valor bajo de la normalidad). No se ha detectado la presencia de la variante mediante secuenciación *Sanger* en muestras de orina y sangre de familiares por vía materna, lo que sugiere que podría tratarse de una variante esporádica (*de novo*) en la paciente.

Neuropatía óptica de Leber (*LHON*)^{34,35}. Esta variante presenta penetrancia incompleta, pudiendo verse afectada por factores ambientales, genéticos y la edad. En estos momentos, se está comprobando el porcentaje de heteroplasma mediante técnicas ortogonales (*PCR-RFLP* microfluídica y secuenciación *Sanger*).

2.3 CASO 3:

2.3.1 Descripción clínica:

Mujer de 14 años y 7 meses. Presenta pie cavo, torpeza al andar, EMG con signos de polineuropatía sensitivo motora predominio axonal. El hermano de la madre se cae con frecuencia y presenta también con pies cavos. Se solicitó un panel que contuviera genes relacionados con neuropatías periféricas/Charcot-Marie-Tooth.

2.3.2 Hallazgos moleculares:

El análisis de las variantes en los genes del ADNn no arrojó resultados concluyentes. Se detectó en el genoma mitocondrial en ADN de sangre la variante *MT-ATP6*: m.9185T>C (p.Leu220Pro) en homoplasma (cobertura 45X).

Apuntes del caso: Esta variante está clasificada como “*Cfrm*” en *Mitomap* y según *ClinVar* se asocia a “*Leigh-Disease/-Ataxia-syndromes/-NARP-like-disease*”. Existen varias publicaciones que la asocian con Charcot-Marie-Tooth de tipo axonal^{36,37}, como presenta la paciente. Por tanto, este hallazgo confirmaría el diagnóstico.

2.4 CASO 4:

2.4.1 Descripción clínica:

Varón de 59 años con hipoacusia progresiva desde los 13 años. Candidato a implante coclear. Historia familiar de hipoacusia (hermanos).

2.4.2 Hallazgos moleculares:

En el ADN mitocondrial se detectó la variante m.1555A>G en el gen *MT-RNR1* (que codifica la subunidad 12S ribosomal mitocondrial) en estado homoplásmico, con una cobertura en la posición de 49X. Está pendiente el análisis de variantes en los genes del ADNn.

2.4.3 Apuntes del caso:

Esta variante se encuentra clasificada como “*drug_response*” en *ClinVar* y “*Cfrm*” en *Mitomap*. Al haberse detectado en el paciente recientemente, no se puede establecer por el momento la causa-efecto definitiva, ya que el paciente aún tiene pendiente el análisis de los genes del ADNn. Sin embargo, por sí misma, la variante es de evidente interés clínico, ya que es una variante asociada a sordera neurosensorial no sindrómica por sensibilidad a aminoglucósidos^{10,38}. Es informativa, junto a otros potenciales hallazgos, dado que prevendría en el paciente y en los familiares que la presenten, la administración de antibióticos aminoglucósidos ototóxicos.

5. CONCLUSIONES

Se ha desarrollado e integrado en el Servicio de Genética, con la participación del Laboratorio de Enfermedades Mitocondriales del Servicio de Bioquímica, una base de datos propia de variantes mitocondriales (variantes presentes en

ADNmt derivado de células sanguíneas). *12OVAR-Mitocondrial* lleva en funcionamiento desde octubre de 2021, y en el momento de la redacción de este artículo (enero de 2022) cuenta con un total de 1513 variantes anotadas e información clínica de los 377 pacientes que aportan las variantes.

Disponer de una base de datos de estas características, que sigue ampliándose según vayan añadiéndose pacientes, permite tener acceso retrospectivo al histórico de variantes y determinar cómo se distribuyen las frecuencias de las mismas en la población que acude a realizarse un estudio genético en el Hospital 12 de Octubre. El hecho de poder actualizar periódicamente las fuentes de anotación permite determinar si ciertas variantes cambian su estatus clínico y conocer en qué pacientes se encuentran. De esta manera, se podría revisar, si procediera, su diagnóstico molecular.

A nivel de investigación, *12OVAR-Mitocondrial* podría ser el punto de partida para llevar a cabo estudios poblacionales, tales como análisis del agrupamiento de determinadas variantes del ADNmt y cómo responden en los grupos de individuos. En el plano de la rutina diagnóstica, el hecho de haber añadido los genes mitocondriales al análisis del exoma, ha permitido la detección de una serie de variantes de potencial interés clínico en 4 pacientes hasta la fecha (1,06% de pacientes).

La principal limitación son las coberturas alcanzadas en el genoma mitocondrial. Aunque son suficientes para detectar variantes, pueden no ser óptimas para un análisis minucioso de su nivel de heteroplasma. Se trataría, por tanto, de un procedimiento de cribado (*screening*). Por este motivo un resultado negativo no excluiría la existencia de una variante con un grado de heteroplasma reducido, y se haría necesaria un análisis por una técnica que sea capaz de alcanzar un grado de profundidad suficiente para establecer conclusiones sólidas a este respecto. Además hay que tener en cuenta que, por las características genéticas particulares del ADNmt (especialmente la segregación mitótica o la presencia de mutaciones presentes únicamente en un tejido particular), y al tratarse de un análisis restringido al tejido que se secuenciará en la rutina del análisis de exoma (sangre), pueden existir variantes mitocondriales que se evidencien en otros tejidos diferentes y que estén ausentes en células sanguíneas.

Sin embargo, y pese a las limitaciones indicadas, se ha podido ampliar hasta la fecha el espectro de diagnóstico en 4 pacientes, que se van a ver beneficiados de un asesoramiento genético más preciso y acorde con su *background* genético. A futuro, y como se ha indicado anteriormente, pacientes ya analizados pueden también verse beneficiados si el estatus de sus variantes mitocondriales cambia con el tiempo.

BIBLIOGRAFIA ESPECÍFICA

- Wallace DC. Mitochondrial genetic medicine. *Nat Genet* [Internet]. 2018;50(12):1642–9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30374071>
- Walker JE. The ATP synthase: the understood, the uncertain and the unknown. *Biochem Soc Trans*

- [Internet]. 2013 Feb 1;41(1):1–16. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23356252>
3. Wallace DC. A mitochondrial bioenergetic etiology of disease. *J Clin Invest* [Internet]. 2013 Apr;123(4):1405–12. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23543062>
 4. Giles RE, Blanc H, Cann HM, Wallace DC. Maternal inheritance of human mitochondrial DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 1980 Nov;77(11):6715–9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6256757>
 5. Pyle A, Hudson G, Wilson IJ, Coxhead J, Smertenko T, Herbert M, et al. Extreme-Depth Re-sequencing of Mitochondrial DNA Finds No Evidence of Paternal Transmission in Humans. *PLoS Genet* [Internet]. 2015 May;11(5):e1005040. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25973765>
 6. Wallace DC, Ye JH, Neckelmann SN, Singh G, Webster KA, Greenberg BD. Sequence analysis of cDNAs for the human and bovine ATP synthase beta subunit: mitochondrial DNA genes sustain seventeen times more mutations. *Curr Genet* [Internet]. 1987;12(2):81–90. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2896550>
 7. Neckelmann N, Li K, Wade RP, Shuster R, Wallace DC. cDNA sequence of a human skeletal muscle ADP/ATP translocator: lack of a leader peptide, divergence from a fibroblast translocator cDNA, and coevolution with mitochondrial DNA genes. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 1987 Nov;84(21):7580–4. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2823266>
 8. Brown WM, Prager EM, Wang A, Wilson AC. Mitochondrial DNA sequences of primates: tempo and mode of evolution. *J Mol Evol* [Internet]. 1982;18(4):225–39. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6284948>
 9. Gorman GS, Chinnery PF, DiMauro S, Hirano M, Koga Y, McFarland R, et al. Mitochondrial diseases. *Nat Rev Dis Prim* [Internet]. 2016;2:16080. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27775730>
 10. Bellusci M, Paredes-Fuentes AJ, Ruiz-Pesini E, Gómez B, MITOSPAIN Working Group, Martín MA, et al. The Genetic Landscape of Mitochondrial Diseases in Spain: A Nationwide Call. *Genes (Basel)* [Internet]. 2021;12(10). Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34680984>
 11. Lott MT, Leipzig JN, Derbeneva O, Xie HM, Chalkia D, Sarmady M, et al. mtDNA Variation and Analysis Using Mitomap and Mitomaster. *Curr Protoc Bioinforma* [Internet]. 2013 Dec;44:1.23.1-26. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25489354>
 12. Ingman M, Gyllensten U. mtDB: Human Mitochondrial Genome Database, a resource for population genetics and medical sciences. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2006 Jan 1;34(Database issue):D749-51. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16381973>
 13. Tanaka M, Takeyasu T, Fuku N, Li-Jun G, Kurata M. Mitochondrial genome single nucleotide polymorphisms and their phenotypes in the Japanese. *Ann N Y Acad Sci* [Internet]. 2004 Apr;1011:7–20. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15126279>
 14. Tanaka M, Cabrera VM, González AM, Larruga JM, Takeyasu T, Fuku N, et al. Mitochondrial genome variation in eastern Asia and the peopling of Japan. *Genome Res* [Internet]. 2004 Oct;14(10A):1832–50. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15466285>
 15. Bolze A, Mendez F, White S, Tanudjaja F, Isaksson M, Rashkin M, et al. Selective constraints and pathogenicity of mitochondrial DNA variants inferred from a novel database of 196,554 unrelated individuals. *bioRxiv*. 2019;
 16. Sonney S, Leipzig J, Lott MT, Zhang S, Procaccio V, Wallace DC, et al. Predicting the pathogenicity of novel variants in mitochondrial tRNA with MitoTIP. *PLoS Comput Biol* [Internet]. 2017;13(12):e1005867. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29227991>
 17. Castellana S, Rónai J, Mazza T. MitImpact: an exhaustive collection of pre-computed pathogenicity predictions of human mitochondrial non-synonymous variants. *Hum Mutat* [Internet]. 2015 Feb;36(2):E2413-22. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25516408>
 18. Castellana S, Biagini T, Petrizzelli F, Parca L, Panzironi N, Caputo V, et al. MitImpact 3: modeling the residue interaction network of the Respiratory Chain subunits. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2021;49(D1):D1282–8. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33300029>
 19. Sherry ST, Ward MH, Kholodov M, Baker J, Phan L, Smigielski EM, et al. dbSNP: the NCBI database of genetic variation. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2001 Jan 1 [cited 2015 Jan 16];29(1):308–11. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=29783&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 20. Landrum MJ, Lee JM, Benson M, Brown G, Chao C, Chitipiralla S, et al. ClinVar: public archive of interpretations of clinically relevant variants. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2015 Nov 17 [cited 2016 Jan 6];44(D1):D862-8. Disponible en: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4702865&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 21. Li H. A statistical framework for SNP calling, mutation discovery, association mapping and population genetical parameter estimation from sequencing data. *Bioinformatics* [Internet]. 2011 Nov 1;27(21):2987–93. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21903627>
 22. Quinlan AR, Hall IM. BEDTools: a flexible suite of utilities for comparing genomic features. *Bioinformatics* [Internet]. 2010 Mar 15;26(6):841–2. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20110278>

23. Mitchell AL, Elson JL, Howell N, Taylor RW, Turnbull DM. Sequence variation in mitochondrial complex I genes: mutation or polymorphism? *J Med Genet* [Internet]. 2006 Feb;43(2):175–9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15972314>
24. Yarham JW, Al-Dosary M, Blakely EL, Alston CL, Taylor RW, Elson JL, et al. A comparative analysis approach to determining the pathogenicity of mitochondrial tRNA mutations. *Hum Mutat* [Internet]. 2011 Nov;32(11):1319–25. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21882289>
25. Wong L-JC. Pathogenic mitochondrial DNA mutations in protein-coding genes. *Muscle Nerve* [Internet]. 2007 Sep;36(3):279–93. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17503499>
26. González-Vioque E, Bornstein B, Gallardo ME, Fernández-Moreno MÁ, Garesse R. The pathogenicity scoring system for mitochondrial tRNA mutations revisited. *Mol Genet genomic Med* [Internet]. 2014 Mar;2(2):107–14. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24689073>
27. Kent WJ, Sugnet CW, Furey TS, Roskin KM, Pringle TH, Zahler AM, et al. The human genome browser at UCSC. *Genome Res* [Internet]. 2002 Jun;12(6):996–1006. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12045153>
28. Kopanos C, Tsiolkas V, Kouris A, Chapple CE, Albarca Aguilera M, Meyer R, et al. VarSome: the human genomic variant search engine. *Bioinformatics* [Internet]. 2019;35(11):1978–80. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30376034>
29. DataTable [Internet]. Disponible en: <https://datatables.net/>
30. Weissensteiner H, Pacher D, Kloss-Brandstätter A, Forer L, Specht G, Bandelt H-J, et al. HaploGrep 2: mitochondrial haplogroup classification in the era of high-throughput sequencing. *Nucleic Acids Res* [Internet]. 2016;44(W1):W58–63. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27084951>
31. Naini AB, Lu J, Kaufmann P, Bernstein RA, Mancuso M, Bonilla E, et al. Novel mitochondrial DNA ND5 mutation in a patient with clinical features of MELAS and MERRF. *Arch Neurol* [Internet]. 2005 Mar;62(3):473–6. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15767514>
32. Valentino ML, Barboni P, Rengo C, Achilli A, Torroni A, Lodi R, et al. The 13042G --> A/ND5 mutation in mtDNA is pathogenic and can be associated also with a prevalent ocular phenotype. *J Med Genet* [Internet]. 2006 Jul;43(7):e38. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16816025>
33. Blok MJ, Spruijt L, de Coo IFM, Schoonderwoerd K, Hendrickx A, Smeets HJ. Mutations in the ND5 subunit of complex I of the mitochondrial DNA are a frequent cause of oxidative phosphorylation disease. *J Med Genet* [Internet]. 2007 Apr;44(4):e74. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17400793>
34. Mackey DA, Oostra RJ, Rosenberg T, Nikoskelainen E, Bronte-Stewart J, Poulton J, et al. Primary pathogenic mtDNA mutations in multigeneration pedigrees with Leber hereditary optic neuropathy. *Am J Hum Genet* [Internet]. 1996 Aug;59(2):481–5. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8755941>
35. Yu-Wai-Man P, Turnbull DM, Chinnery PF. Leber hereditary optic neuropathy. *J Med Genet* [Internet]. 2002;39(3):162–9. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11897814>
36. Panosyan FB, Tawil R, Herrmann DN. Episodic weakness and Charcot-marie-tooth disease due to a mitochondrial MT-ATP6 mutation. *Muscle Nerve* [Internet]. 2017;55(6):922–7. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27783406>
37. Pitceathly RDS, Murphy SM, Cottenie E, Chalasani A, Sweeney MG, Woodward C, et al. Genetic dysfunction of MT-ATP6 causes axonal Charcot-Marie-Tooth disease. *Neurology* [Internet]. 2012 Sep 11;79(11):1145–54. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22933740>
38. Vandebona H, Mitchell P, Manwaring N, Griffiths K, Gopinath B, Wang JJ, et al. Prevalence of mitochondrial 1555A-->G mutation in adults of European descent. *N Engl J Med* [Internet]. 2009 Feb 5;360(6):642–4. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19196685>
39. Danecek P, Auton A, Abecasis G, Albers CA, Banks E, DePristo MA, et al. The variant call format and VCFtools. *Bioinformatics* [Internet]. 2011 Aug 1 [cited 2017 Feb 12];27(15):2156–8. Disponible en: <https://academic.oup.com/bioinformatics/article-lookup/doi/10.1093/bioinformatics/btr330>

25-EL LABORATORIO EN EL DIAGNÓSTICO DE LAS PORFIRIAS AGUDAS

Autores: Maialen Palomino Alonso, Silvia Díaz Díaz.

Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos, Hospital Universitario 12 de octubre, Madrid.

Palabras clave: Porfirias, Hemo, Test de Hoesch.

1. INTRODUCCIÓN

Las porfirias son un grupo de enfermedades derivadas de la alteración en la biosíntesis del grupo hemo. El grupo hemo forma parte de moléculas esenciales en el organismo como la hemoglobina, mioglobina, citocromos y algunas enzimas (catalasa, glutatión peroxidasa, guanilato ciclasa). Esta ruta biosintética es una de las vías mejor conservadas durante la evolución de las especies.

Todas las células nucleadas del organismo pueden sintetizarlo, sin embargo, la mayor producción corre a cargo de la médula ósea (80%) y el hígado (15%).

La síntesis del hemo se realiza a través de una secuencia de ocho reacciones químicas catalizadas por ocho enzimas distintas, las cuales son codificadas por ocho genes (Figura 1). Cada una de estas enzimas puede presentar alteraciones que generan una reducción parcial o total de su actividad catalítica.

Esta alteración enzimática da lugar (exceptuando la primera enzima de la vía cuya síntesis y actividad se incrementa de

forma compensatoria), a distintos tipos de porfirias, produciendo alteraciones metabólicas y bioquímicas derivadas de una única deficiencia enzimática. De este modo, en cada tipo de porfiria se produce la acumulación de alguno de los intermediarios de la ruta metabólica. Esta acumulación es la responsable de los signos y los síntomas asociados. Además, esto deriva en una eliminación excesiva de porfirinas o sus precursores en orina y heces. Es el grado de hidrosolubilidad de estos compuestos lo que hace que se eliminen preferentemente por orina o por heces.

El laboratorio tiene un papel clave en el diagnóstico de las porfirias, ya que permite confirmar o descartar la sospecha clínica basada en síntomas poco específicos, como dolor abdominal, náuseas o eritemas solares. Los patrones de alteración bioquímica y el análisis de porfirinas en líquidos biológicos (sangre, orina o heces) permite, no sólo la confirmación bioquímica, sino también la clasificación del tipo de porfiria.

El diagnóstico rápido de porfiria aguda es especialmente importante cuando se está produciendo una crisis, porque si

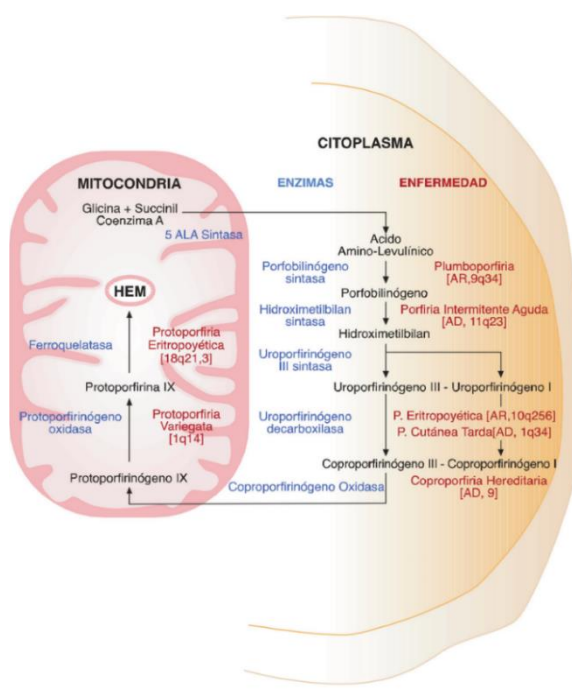


Figura 1. Síntesis del grupo hemo, que se encuentra compartimentarizada entre la mitocondria y el citoplasma. Se muestran las distintas etapas de la ruta biosintética, con las enzimas (azul), los intermediarios (negro) y las enfermedades asociadas al déficit de cada enzima (rojo). AD, autosómica dominante; AR, autosómica recesiva. Obtenido de: Buitrago Jaramillo J. (2009)¹.

no se instaurara el tratamiento a tiempo, el desenlace puede ser fatal. Una prueba sencilla, rápida y barata es el test de Hoesch, que determina cualitativamente en unos segundos la presencia de un exceso de porfobilinógeno (PBG) en orina. Esta prueba puede realizarse tanto en el laboratorio como en urgencias, a la cabecera del paciente. Sin embargo, no se utiliza tanto como se debería, debido a la baja consideración de esta patología por su escasa incidencia. Con esta prueba, se puede descartar o confirmar rápidamente una crisis de porfiria aguda, evitando pruebas y tratamientos innecesarios que pueden empeorar la situación clínica del paciente.

2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

2.1 Motivo de consulta:

Mujer de 21 años, con dolor abdominal intenso no filiado que no se autolimita.

2.2 Antecedentes personales:

No presenta antecedentes personales relevantes.

2.3 Antecedentes familiares:

Sin antecedentes familiares a destacar.

2.4 Enfermedad actual:

La paciente presenta desde hace una semana clínica catarral, odinofagia y tos sin expectoración autolimitada. Posteriormente comienza con dolor abdominal en hipogastrio y diarrea. El dolor se intensifica y se irradia hacia la zona lumbar.

Debido al empeoramiento de su estado, acude al servicio de urgencias, y es diagnosticado de gastroenteritis aguda, iniciando tratamiento con sueroterapia, butilescopolamina y metamizol. Con ello cesa la diarrea, pero empeora el dolor abdominal.

Un día después ante la persistencia del intenso dolor abdominal, la paciente acude a otro servicio de urgencias, valorándose la posibilidad de crisis porfírica. Se realiza un test de Hoesch que resulta intensamente positivo (Figura 2).

Revisando la historia clínica se atribuye como posible desencadenante los cambios hormonales previos a la menstruación. La sintomatología inicial empeora tras la administración de metamizol.

2.5 Exploración física:

La paciente en ese momento no presentaba síntomas miccionales, salvo orina algo más oscura, tampoco fiebre ni alteraciones en la conducta o el ánimo. En la analítica realizada no hay hallazgos patológicos a destacar, manteniendo el sodio en 137 mEq/L.

Se le pauta analgesia con paracetamol y dolantina y ondansetrón para las náuseas. Se mantiene en observación para controlar los síntomas y se deriva al servicio de medicina interna con un grupo especializado en porfirias.

3. INFORME DEL LABORATORIO

A su llegada a urgencias se solicita una analítica completa con bioquímica, hematología y coagulación. Además, se solicita estudio de la orina, con prueba de embarazo y test de Hoesch.

Respecto a la analítica sanguínea, no hay alteraciones a destacar, manteniendo el sodio en el límite bajo, pero dentro del rango de referencia.

En el estudio de orina (Tabla 1), la positividad del test de Hoesch, confirma un ataque de porfiria aguda. Posteriormente, se cuantifican los precursores 5-amino-levulinato (ALA) y PBG, encontrándose ambos elevados (más de 5 veces el límite superior de referencia).

El análisis de las porfirinas totales en orina mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC, high performance liquid chromatography) refleja una elevación a expensas de las fracciones uro y coproporfirinas.

El estudio bioquímico se completa con la determinación de porfirinas en plasma (barrido fluorimétrico), determinación de porfirinas en heces y análisis genético de las mutaciones



Figura 2. Test de Hoesch positivo con viraje de color hacia rosa-rojizo, indicando la presencia de porfobilinógeno en la orina y confirmando un ataque agudo de porfiria. Se utiliza el reactivo de Ehrlich (4-dimetilaminobenzeno diluido en ácido acético y ácido perclórico) que se mezcla con la orina protegida de la luz. Elaboración propia.

asociadas.

	Unidades	Valores referencia	Ingreso	Alta	Tras accidente
Screening porfobilinógeno (test Hoesch)	-	Negativo	<i>Positivo</i>	<i>Positivo</i>	<i>Positivo</i>
Ácido delta-aminolevulínico (ALA)	mg/L	≤ 7.50	<i>41.10</i>	6.18	30.53
Porfobilinógeno (PBG)	mg/L	≤ 3.40	<i>135.40</i>	22.7	152.70
Screening porfirinas totales	mg/L	10.00 – 200.00	<i>2771.00</i>	820.00	848.00
Creatinina	mg/dL	28.00 – 217.00	148.40	138.80	151.90
Coproporfinas	µg/gr creatinina	≤ 150.00	<i>1379.00</i>	737.00	441.00
Uroporfinas	µg/gr creatinina	≤ 30.00	<i>1392.00</i>	83.00	407.00

Tabla 1. Resultados de distintos estudios en varias orinas de la paciente. Al ingreso, durante la primera crisis presenta un test de Hoesch positivo con una concentración tanto de precursores (ALA y PBG) como de porfirinas elevada. Al alta se observa la disminución de estos valores, que, aunque no llegan a normalizar, se correlaciona con la mejoría clínica. Además, a raíz del accidente de tráfico que desemboca en una crisis aguda, se produce una elevación considerable de los precursores. En cursiva, resultados fuera del límite de referencia. Elaboración propia.

El barrido fluorimétrico en plasma muestra un pico de emisión a 620 nm (Figura 3), compatible con porfiria aguda intermitente (PAI), coproporfiria hereditaria (CPH) y porfiria cutánea tarda (PCT). Las concentraciones normales de las fracciones coproporfirina y protoporfina en heces (Tabla 2), descartan CPH y Porfiria Variegata, orientando el diagnóstico hacia PAI.

4. DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES

El cuadro inicial de náuseas y vómitos, junto a dolor abdominal difuso y persistente, hace necesario descartar la posibilidad de ataque agudo de porfiria.

5. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

Durante su estancia en urgencias se realizó una radiografía de tórax, ecografía abdominal y un electrocardiograma sin alteraciones significativas.

6. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

El estudio genético detecta una mutación en el gen *HMBS* (que codifica para la hidroximetilbilano sintasa), de herencia autosómica dominante. Se detecta en heterocigosis la variante c.331G>A. Esta mutación ha sido previamente descrita en las bases de datos como patogénica y responsable del defecto enzimático de la enzima hidroximetilbilano sintasa.

Se realiza estudio familiar, donde se detecta que su madre es portadora de la misma variante genética.

Tras el diagnóstico de porfiria y con el fin de prevenir una nueva crisis, se proporciona al paciente una serie de recomendaciones:

- Evitar fármacos denominados porfirinogénicos, Se recomienda consultar la página web: <http://porphyriadrugs.com/> o a su médico antes de comenzar cualquier tipo de tratamiento. Sobre todo, tener especial consideración con los de uso más común:
 - Metamizol (nolotil, buscapina compositum).
 - Anticonceptivos orales y los anticonceptivos de emergencia (“píldora del día después”).
 - Septrim (trimetoprim/sulfametoxazol).
- Dieta rica en hidratos de carbono.
- Recomendable la vacunación antigripal y anti-neumocócica.

7. EVOLUCIÓN

Durante su ingreso en la planta de medicina interna se ajusta el tratamiento analgésico con dolantina intravenoso y antiemético con ondansetrón. Se realizan ciclos de tratamiento con arginato de hematina, 200mg en cuatro dosis, con una notable mejoría clínica a partir de la tercera dosis.

Dado el buen estado general de la paciente, se decide alta hospitalaria. Se realiza seguimiento con analíticas de sangre y orina periódicas.

La paciente se mantiene clínicamente estable durante un tiempo hasta que sufre un accidente de tráfico, que le

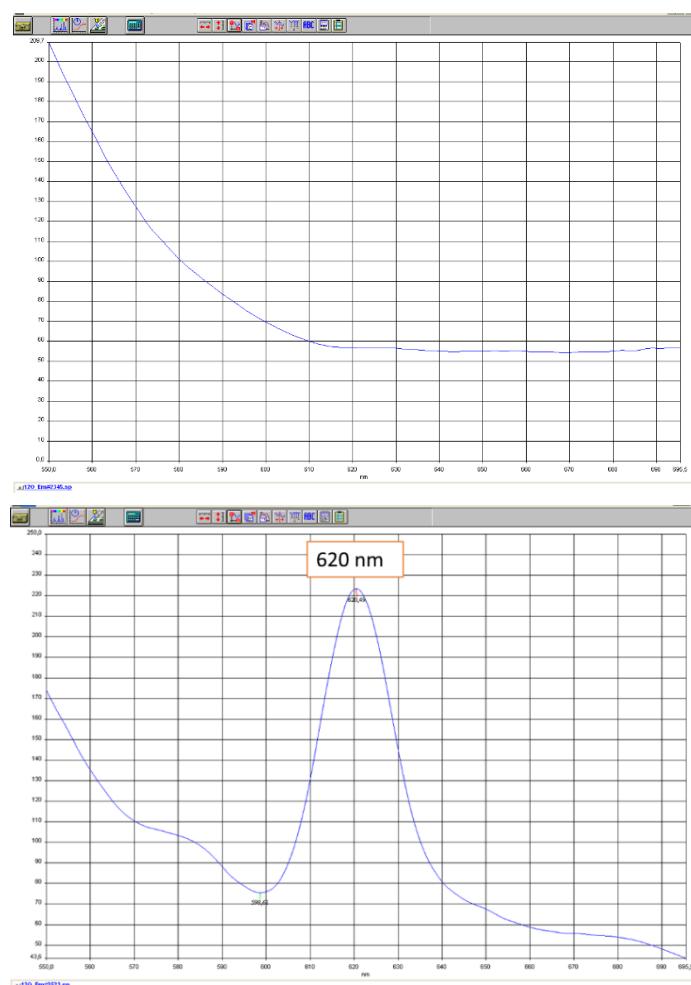


Figura 3. Barrido fluorimétrico en plasma. Arriba, perfil normal sin pico de emisión; Abajo, perfil patológico de la paciente, con un pico de emisión a 620nm. Elaboración propia.

provoca un latigazo cervical. Una semana después comienza con dolor abdominal difuso, acompañado de importante anorexia, vómitos, estreñimiento y febrícula. Motivo por el cual acude a urgencias presentando un test de Hoesch positivo y un notable incremento de los valores tanto de los precursores, como de las porfirinas totales en orina (Tabla 1)

Debido a la ausencia de hiponatremia, hipertensión, ni alteraciones en el electrocardiograma, se decide actitud expectante. Se recomienda dieta rica en hidratos de carbono y se pauta ondansetrón para las náuseas. La evolución en

las revisiones posteriores es favorable manteniéndose asintomática.

8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

Las porfirias son un grupo de enfermedades derivadas de la alteración en la biosíntesis del grupo hemo.

La clasificación es compleja, y en la literatura hay descritas varias combinaciones. Pueden diferenciarse según la clínica en dos tipos:

	Unidades	Valores referencia	Resultado
Coproporfiria	µg/g heces secas	<20	6,5
Protoporfiria	µg/g heces secas	<30	21,9

Tabla 2. Resultados del estudio de las fracciones de porfirinas en heces. Los valores se encuentran dentro de los valores de referencia, lo que es compatible con una PAI y descarta una CPH o una PV. Elaboración propia.

- Agudas. Se caracterizan porque sufren crisis agudas desencadenadas por algún factor precipitante. Las crisis se manifiestan con clínica abdominal o alteraciones neurológicas, asociadas a una acumulación tóxica de precursores (ALA y PBG).
 - La PAI, presenta únicamente clínica neurológica.
 - La CPH y porfiria Variegata son consideradas porfirias mixtas, ya que pueden manifestarse con clínica cutánea y/o en forma de crisis idénticas a las de PAI.
 - La porfiria aguda de Doss, de incidencia extremadamente rara
- Cutáneas. Presentan síntomas exclusivamente cutáneos, asociados a la fototoxicidad de las porfirinas acumuladas en la piel. Se incluyen la PCT, la protoporfiria eritropoyética (PPE) y la porfiria eritropoyética congénica (o enfermedad de Gunther). Las porfirias también suelen clasificarse en hepáticas o hematopoyéticas según cual sea el órgano o tejido más afectado por la acumulación de estos metabolitos.

Estas porfirias se denominan de origen primario, debido a un defecto genético en alguna de las enzimas implicadas en la biosíntesis del hemo, con herencias autosómicas dominantes o recesivas (Figura 1). Las porfirias secundarias, que se da con más frecuencia, derivan de alteraciones puntuales que modifican la síntesis del hemo y provocan acumulación de porfirinas. En este grupo se encuentran la intoxicación por plomo (saturnismo), tirosinemia tipo I, alteraciones del metabolismo del hierro, enfermedades hepáticas, insuficiencia renal o asociadas a tóxicos (alcohol, arsénicos, drogas,...).

En relación con el caso expuesto, en este capítulo se va a hacer una revisión de las porfirias agudas. Las porfirias agudas comprenden cuatro enfermedades: PAI, PV, CPH y la menos común, la porfiria aguda de Doss. Son similares ya que pueden producir un ataque agudo neurológico potencialmente fatal, cuya clínica es indistinguible entre ellas. Únicamente el análisis bioquímico y genético permite clasificarlas correctamente.

Las manifestaciones agudas suelen comenzar con un intenso dolor abdominal y alteraciones del sistema nervioso central (agitación, confusión), sistema nervioso autónomo (hipertensión, vómitos y estreñimiento) y sistema nervioso periférico (debilidad y alteraciones sensoriales).

Además, pueden aparecer desequilibrios electrolíticos, sobre todo hiponatremia, arritmias, convulsiones y neuropatía motora. Si no se instaura tratamiento precoz puede evolucionar a tetraplejía y muerte por parálisis de los músculos respiratorios.

El ataque agudo se suele producir después de la pubertad, sobre todo en la tercera década de vida y es más frecuente en mujeres que en hombres. Se asocian a mutaciones genéticas, pero requieren de un factor precipitante que desencadene la crisis. Los factores desencadenantes pueden ser endógenos (alteraciones hormonales, ciclo menstrual.) y exógenos (fármacos como metamizol, algunos antibióticos, anticonceptivos orales, píldora del día después, consumo de alcohol, infecciones, estrés, ayuno, ejercicio

físico). Aunque en algunos casos, se desencadena sin ninguna causa aparente.

El manejo del ataque agudo consiste en la identificación y supresión de los factores precipitantes. El tratamiento es sintomático con opiáceos, antieméticos y ansiolíticos, además de la corrección de la hiponatremia. Hasta el año 2020, la administración de hemina intravenosa era la única terapia aprobada. La hemina inhibe la enzima ácido aminolevulínico sintasa 1 (ALAS1) en el hígado, disminuyendo de este modo la producción de ALA y PBG y su acumulación. A partir de marzo de 2020, se aprueba la utilización de un nuevo fármaco (Givosirán) para adultos y adolescentes a partir de 12 años. Es un ácido ribonucleico de interferencia dirigido a las células del hígado para reducir los niveles de ALAS1.

El diagnóstico bioquímico es fundamental, para orientar el diagnóstico.

Para el análisis de los precursores en orina se realiza inicialmente el test de Hoesch, que consiste en la detección cualitativa de PBG utilizando el reactivo de Ehrlich (4-dimetilaminobenceno diluido en ácido acético y ácido perclórico). Consiste en mezclar 1 mL del reactivo con un par de gotas de orina aislada (recogida preferiblemente durante la crisis). Si se produce un viraje de color hacia rosa confirma la presencia de un ataque agudo de porfiria (Figura 2). Posteriormente se realiza la cuantificación de los precursores (ALA y PBG) mediante columnas de intercambio iónico.

El análisis de porfirinas totales en orina y sus fracciones se realiza mediante HPLC en fase reversa con detector de fluorescencia. La solubilidad de las distintas porfirinas está determinada por el número de grupos carboxílicos que poseen en el anillo pirrólico. De esta forma se clasifican de mayor a menor solubilidad en agua en: Uroporfirina (8 grupos carboxílicos), Heptacaboxiporfirina (7 grupos carboxílicos), Hexacaboxiporfirina (6 grupos carboxílicos), Pentacaboxiporfirina (5 grupos carboxílicos) y Coproporfirina (4 grupos carboxílicos).

El barrido de fluorescencia en plasma es otra de las pruebas realizadas en el estudio. Para ello se utiliza un fluorímetro convencional y una muestra de 1-2 mL de plasma obtenido en tubo de EDTA. El fundamento se basa en que las porfirinas puedan excitarse con luz ultravioleta (a 405 nm) gracias a su estructura química (anillo tetrapirrólico), y emiten fluorescencia en un rango de longitudes de onda (de 550 a 700nm). La acumulación de un tipo u otro de porfirinas hace que a aparezca en el barrido de plasma un pico con un máximo de emisión a diferentes longitudes de onda.

- Un pico entre 634-636 nm sugiere PPE.
- Un pico entre 626-628 nm sugiere PV.
- Un pico entre 619-621 nm orienta hacia PCT, CPH, PAI o Porfiria de Günther.

Finalmente, el estudio se completa con la determinación de porfirinas en heces. Se utiliza el método de extracción por solvente de Holti et al.², refiriéndose los resultados como µg de porfirinas por gramo de heces desecadas. De este modo, se puede diferenciar una CPH (valores elevados a favor de la fracción coproporfirina), de una PV (valores elevados a favor

de la fracción protoporfiria), de una PAI (valores normales de ambas fracciones).

Como conclusión, las porfirias son un grupo de enfermedades raras que presentan una clínica importante y en ocasiones compleja. Pueden incluso ocasionar un desenlace fatal, en el caso de las crisis agudas. El laboratorio tiene un papel fundamental en su estudio, ya que su diagnóstico es bioquímico y genético. Por tanto, es importante que, en urgencias bajo cualquier sospecha de dolor abdominal no filiado, acompañado de vómitos, estreñimiento o ansiedad, se debe sospechar el diagnóstico de porfiria aguda, realizando el test de Hoesch como una prueba de cribado más.

BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. Buitrago Jaramillo J. y Santa S. Hemotórax espontáneo: una forma inusual de presentación de la porfiria intermitente aguda. *Biomédica*. 2009;29(3):339.
2. Holti G., Rimington C., Tate B.C., Thomas G. Aninvestigacion of porphyria cutanea tarda. *Q.J.Med* (1985) 27:1-17.

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- To Figueras J. Porfirias. *Ed Cont Lab Clín* 2007;11:1-8.
- Panizo Santos C, González Hernández A, Alegre Martínez E, Monreal Marquiegui I, Mugueta Uriaque C, Restituto Aranguíbel P, et al. Síntesis y degradación del hemo. Porfiria. Hiperbilirrubinemia. En: González Hernández A, editor. *Principios de bioquímica clínica y patología molecular*. 2ª ed. Barcelona: Elsevier; 2014. p. 81-90.
- Gómez Abecia S, Enríquez de Salamanca R. Diagnóstico en el laboratorio de las porfirias. Programa de formación continuada a distancia. Madrid: AEFA. 2013.

BLOQUE VII

NEFROLOGÍA

26-CRISTALES DE 2,8-DIHIDROXIADENINA EN ORINA COMO REFLEJO DEL DÉFICIT DE LA ENZIMA ADENINA FOSFORRIBOSILTRANSFERASA

Autores: Julia Sanz Gómez, Jesús Cabanes Madrid, Alba María Fernández del Pozo

Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Palabras clave: Sedimento urinario, Cristales de 2,8-dihidroxiadenina, Déficit de adenina fosforribosiltransferasa

1. INTRODUCCIÓN

El déficit de la enzima adenina fosforribosiltransferasa (APRT) es un trastorno genético poco frecuente de herencia autosómica recesiva que afecta a la ruta de salvamento y al catabolismo de los nucleótidos de purina. La deficiencia de APRT se encuentra asociada a la presencia en orina de elevadas concentraciones de 2,8-dihidroxiadenina, un metabolito nefrotóxico que precipita formando cristales y/o cálculos urinarios, y que puede conducir al desarrollo de diferentes afecciones renales.

Las vías de degradación de los nucleótidos de purina culminan en la formación y excreción urinaria de ácido úrico como producto final del catabolismo. La degradación de los nucleótidos monofosfato de adenina y guanina comienza con una reacción de hidrólisis catalizada por la enzima 5'-nucleotidasa que conlleva la pérdida del grupo fosfato y la formación de los productos adenosina y guanosina, respectivamente. A continuación, estos productos sufren un proceso de desaminación catalizado por enzimas desaminasas, así como un proceso de hidrólisis del enlace O-glucosídico catalizado por enzimas nucleosidasas que conduce a la obtención de D-ribosa y de las bases nitrogenadas libres hipoxantina y xantina. Finalmente, estos intermedios son oxidados por acción de la xantina oxidasa o xantina deshidrogenasa (XDH) a ácido úrico¹.

- Las bases púricas libres son en gran parte reutilizadas para la síntesis de nuevos nucleótidos en las denominadas vías de salvamento. El destino metabólico de la adenina libre, que procede fundamentalmente de la dieta y de la biosíntesis endógena de poliaminas, es la reacción catalizada por la enzima adenina fosforribosiltransferasa. En esta vía de salvamento, la adenina libre y el 5-fosfo- α -D-ribosil-1-pirofosfato (PRPP) reaccionan formando monofosfato de adenosina (AMP) como producto y liberando una molécula de pirofosfato (PP_i). La deficiencia en la actividad enzimática de la APRT produce una acumulación de adenina, que sufre entonces una vía de degradación alternativa en la cual se transforma en 2,8-dihidroxiadenina (2,8-DHA) mediante una reacción catalizada por la enzima xantina oxidasa (Figura 1). La depuración renal de la 2,8-DHA es elevada debido, probablemente, tanto a su filtración como a su secreción tubular. Este metabolito nefrotóxico, que alcanza elevadas concentraciones en la orina en los individuos

afectados por la deficiencia de APRT, es marcadamente insoluble y precipita formando cristales².

El déficit de APRT sigue un patrón de herencia autosómico recesivo. El gen que codifica la enzima (gen *aprt*) se encuentra localizado en el cromosoma 16q24.3. Tiene una longitud de 2.6 kb, está formado por cinco exones y cuatro intrones y tiene una región codificante de 540pb. Se han definido dos tipos de déficit de APRT en base a la distinta actividad enzimática observada en extractos celulares *in vitro*. Sin embargo, ambos tipos de déficits presentan manifestaciones clínicas similares e implican una deficiencia completa de la actividad de la enzima APRT *in vivo*. El déficit de APRT de tipo I se caracteriza por una completa deficiencia en la actividad enzimática tanto *in vivo* como *in vitro* y afecta predominantemente a la población caucásica. Por el contrario, el déficit de tipo II se caracteriza por una completa deficiencia *in vivo* y por una deficiencia parcial *in vitro*, y se ha observado casi exclusivamente en la población japonesa. Los alelos mutados responsables de la enfermedad se han denominado APRT*Q0 para el déficit de tipo I y APRT*J para el déficit de tipo II. El alelo APRT*Q0 representa un grupo heterogéneo de mutaciones para las que los pacientes con déficit de tipo I son homocigotos o heterocigotos compuestos. APRT*J es un alelo con una mutación de cambio de sentido (*missense mutation*) en el exón 5 (Met136Thr). Los pacientes con déficit de tipo II tienen un genotipo APRT*J/APRT*J o, con mucha menor frecuencia, APRT*J/APRT*Q0³.

El déficit de la enzima APRT es considerada como una enfermedad rara a pesar de que se desconoce su prevalencia exacta. Algunos estudios genéticos poblacionales han permitido estimar que la prevalencia en la población japonesa es de 1/27,000, mientras que en la población caucásica se encontraría entre 1/50,000 y 1/100,000. Estas estimaciones distan en gran medida de los datos reportados hasta el momento, lo que parece indicar que el déficit de APRT es una patología infradiagnosticada. La mayoría de casos y estudios publicados al respecto proceden de Japón, Islandia y Francia. El diagnóstico del déficit de la enzima APRT puede llegar a constituir un reto debido, no solo al escaso conocimiento o conciencia de esta patología, sino también a la variabilidad de la sintomatología y de la edad a la que esta se manifiesta. Los datos proporcionados por los estudios disponibles indican que la enfermedad puede cursar con episodios de urolitiasis y

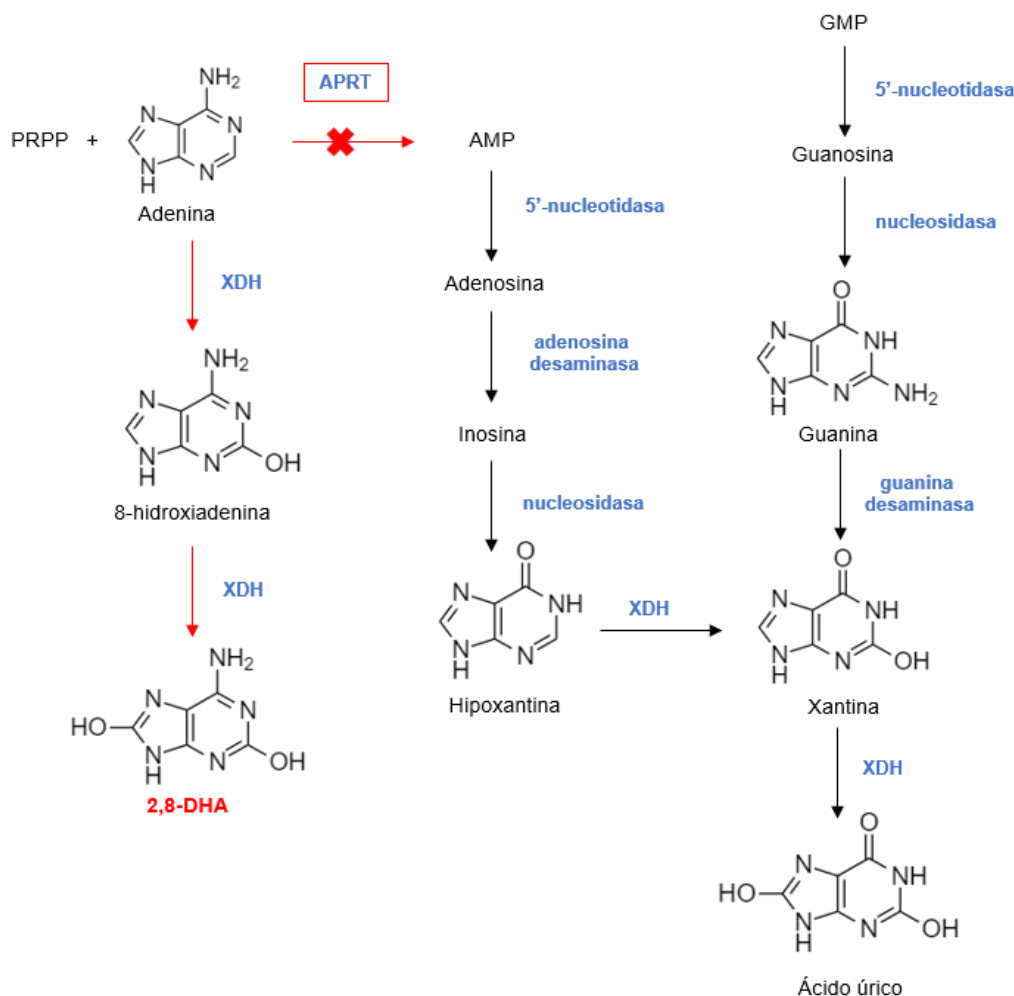


Figura 1. Metabolismo de la adenina en el déficit de la enzima APRT. Elaboración propia

nefropatía cristalina secundaria al depósito de 2,8-DHA en el parénquima renal. La nefropatía por 2,8-DHA se encuentra asociada a una pérdida progresiva de la función renal (ERC) que puede evolucionar a una enfermedad renal en etapa terminal, siendo preciso diálisis y trasplante. Algunos pacientes también presentan episodios de insuficiencia renal aguda, mientras que otros permanecen asintomáticos^{4, 5, 6}. Los inhibidores de la xantina oxidasa alopurinol y febuxostat han demostrado ser eficaces como tratamiento, ayudando a prevenir la progresión de la enfermedad renal, así como su reaparición tras el trasplante, evitando la pérdida rápida de función del injerto⁷.

El diagnóstico del déficit de APRT se basa, principalmente, en la identificación de los cristales de 2,8-DHA, que son un hallazgo inequívoco de esta patología. Esta identificación suele realizarse mediante el examen de los cristales presentes en la orina o mediante el análisis de los cálculos urinarios con espectroscopía infrarroja. Si se realiza una biopsia renal, los cristales depositados en el parénquima pueden analizarse mediante microscopía de luz polarizada o microscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIRM). En el caso de que no sea posible analizar la naturaleza de los cristales o cálculos urinarios, la medida de la actividad enzimática de la APRT en lisados de eritrocitos puede resultar de utilidad en el diagnóstico. Debido a su creciente

disponibilidad y su coste cada vez más asequible, el diagnóstico genético, consistente en la secuenciación del gen *aprt* en busca de mutaciones patogénicas tras su amplificación mediante PCR, también constituye una alternativa.

2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

2.1 Motivo de consulta:

Mujer de 69 años que acude a consulta de nefrología para la revisión de su segundo trasplante renal.

2.2 Antecedentes personales:

Entre los antecedentes personales, destacan:

- Hipertensión arterial y dislipemia.
- Síndrome de Usher con sordera congénita y retinitis pigmentaria.
- Insuficiencia renal crónica con inicio de hemodiálisis hace 15 años.

2.3 Antecedentes familiares:

Padres consanguíneos. Su madre tuvo 3 abortos espontáneos, dos niños (un chico y una chica) que fallecieron antes de los 3 años (causa desconocida) y 5 hijas. Las dos

mayores con cólicos, sin hipoacusia ni daño renal aparente. La tercera falleció tras trasplante de riñón. La cuarta (caso índice) es sorda y trasplantada de riñón. La quinta es sorda.

2.4 Enfermedad actual:

Paciente en seguimiento de insuficiencia renal crónica secundaria a nefritis intersticial crónica.

3. INFORME DEL LABORATORIO

De cara a la consulta con el nefrólogo se le solicitó una bioquímica general en sangre (perfil hepatorenal y lipídico), y el análisis sistemático y sedimento de orina. A destacar:

De la bioquímica general en suero destacan los niveles algo elevados de creatinina, con un valor de 1,55 mg/dL.

Respecto a la muestra de orina, los resultados a destacar del análisis sistemático semicuantitativo fueron: proteínas 30 mg/dL, pH 5,5 y positivo en leucocitos. En el sedimento urinario se observaron 53 leucocitos por campo, 3 hematíes por campo, bacteriuria moderada, células epiteliales frecuentes y cristales de 2,8-dihidroxiadenina (Figura 2A y 2B).

4. DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES

Ante la presencia de los inusuales cristales de 2,8-dihidroxiadenina, la muestra de orina fue sometida a diferentes procedimientos rutinarios que permitieran descartar la posibilidad de que fueran otro tipo de cristales, gránulos de almidón u otro elemento del sedimento urinario. La adición a distintas alícuotas de la orina de soluciones de ácido clorhídrico y sosa para acidificar y alcalinizar la muestra

respectivamente, no produjeron en ningún caso la disolución de los cristales a estudio. Tampoco fueron teñidos al añadir la solución de lugol.

Finalmente, y debido a las características birrefringentes que presenta este compuesto, se analizó la muestra de orina bajo el microscopio de luz polarizada, observándose en todos los campos la característica “cruz de Malta” propia de los cristales de 2,8-dihidroxiadenina (Figura 2C), confirmándose la identificación y por tanto el diagnóstico

5. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

El servicio de Genética realizó a la paciente un estudio mediante secuenciación masiva del exoma completo, filtrando el análisis para el gen *aprt*. Mediante dicho estudio se detectó la presencia de la variante patogénica c.286_287del (p.Thr96SerfsTer13) en aparente homocigosis en el gen *aprt*. Esta variante consiste en la delección de dos nucleótidos que, presumiblemente, tiene como consecuencia un desplazamiento en la pauta de lectura del ARN mensajero y la generación de un codón de parada a 13 codones. Esto podría provocar que, el ARN mensajero fuera degradado mediante un mecanismo mediado por variantes sin sentido. Esta variante se encuentra publicada con muy baja frecuencia, habiendo tan solo 1 portador de una cohorte de más de 125000 personas en la base de datos gnomAD. Al mismo tiempo se ha descrito la presencia de variantes de pérdida de función en el gen como un mecanismo de patogenicidad. Por todo ellos se concluye que variantes patogénicas en el gen *aprt* se asocian a la deficiencia de adenina fosforribosiltransferasa.

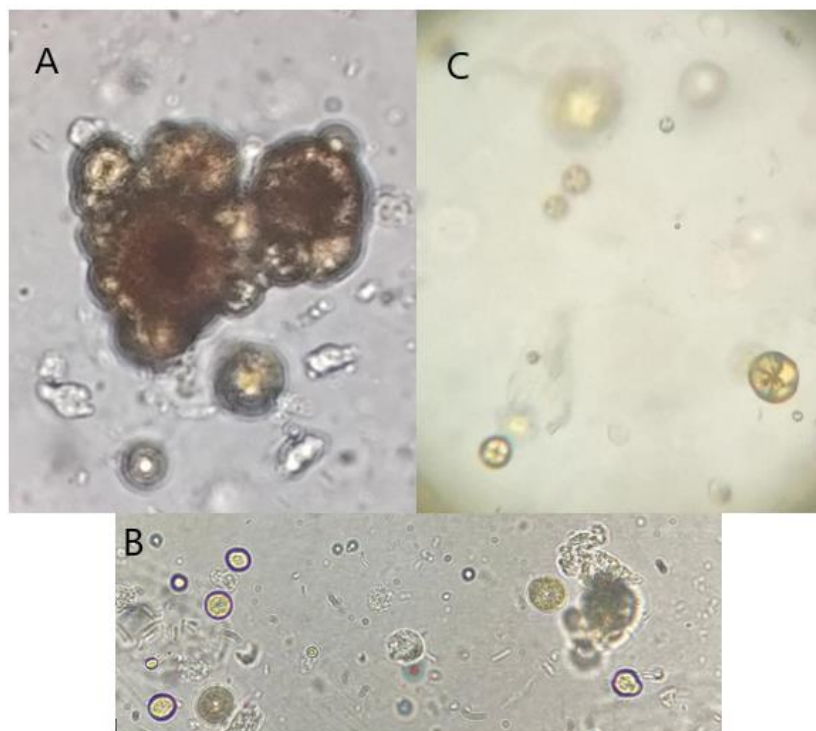


Figura 2. A y B) Cristales de 2,8-DHA en microscopio óptico. **C)** Cristales de 2,8-DHA en microscopio de luz polarizada. 400x (objetivo 40x, ocular 10x).
Elaboración propia.

6. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Paciente homocigota para la variante patogénica c.286_287del (p.Thr96SerfsTer13) en el gen *aprt*, compatible con el diagnóstico de deficiencia de adenina fosforribosiltransferasa (APRT) autosómico recesivo.

7. EVOLUCIÓN

Desde el punto de vista genético, se le recomienda a la paciente ampliar el estudio en los familiares afectos, si los hubiera, así como en aquellos con riesgo de ser portadores.

Desde el punto de nefrológico, la paciente debe continuar yendo a revisión cada cierto tiempo para evaluar su función renal. Entre los fármacos que se incluyen en su tratamiento se encuentra el alopurinol, inhibidor de la enzima xantina oxidasa o xantina deshidrogenasa.

8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

El examen microscópico del sedimento urinario constituye una parte fundamental del análisis de orina de rutina. Es una valiosa herramienta diagnóstica para la detección y seguimiento de afecciones renales, del tracto urinario y de otras enfermedades sistémicas. El estudio de la cristaluria resulta de especial interés para el diagnóstico de la litiasis renal y para evaluar la eficacia de las medidas terapéuticas propuestas a estos pacientes. La cristaluria es un fenómeno natural que resulta de la sobresaturación de la orina y puede ser tan solo un reflejo de una situación transitoria en la que exista un bajo volumen urinario o una elevada concentración de solutos, sin que su presencia constituya un hallazgo patológico *per se*. Sin embargo, la formación de cristales en los túbulos renales es un paso inicial necesario en la formación de cálculos, y la presencia de cristaluria es más frecuente en los pacientes formadores de cálculos que en las personas sanas⁸.

Por otro lado, existen ciertos cristales que no se encuentran normalmente en la orina y cuya presencia es un claro indicio de una patología específica. Entre ellos destacan los cristales formados por 2,8-dihidroxiadenina, que constituyen una manifestación característica del déficit de APRT. Los cristales de 2,8-DHA se observan bajo el microscopio óptico como elementos esféricos de tamaño variable, con espículas centrales y limitados por un borde oscuro. Presentan un color pardo-rojizo, aunque a veces tienen una tonalidad más amarilla. Su examen mediante microscopía de luz polarizada resulta de gran utilidad para su identificación, ya que muestran una característica cruz de Malta. En caso de que sea preciso realizar más pruebas para confirmar el diagnóstico, estos cristales pueden caracterizarse mediante espectroscopía infrarroja o microscopía infrarroja con transformada de Fourier.

La identificación de los cristales de 2,8-DHA en el sedimento urinario mediante microscopía óptica y, fundamentalmente, mediante microscopía de luz polarizada, es un método rápido, económico, fiable y no invasivo que puede resultar de gran valor para el diagnóstico del déficit de APRT.

Aunque el déficit de APRT se considera una enfermedad rara, existen indicios de que es una patología

infradiagnosticada. En muchos casos, los pacientes no reciben el diagnóstico hasta que se ha producido una pérdida significativa de la función renal, o incluso son diagnosticados en un momento posterior al trasplante. La formación y concienciación del personal encargado en relación a la identificación de los cristales de 2,8-DHA en el sedimento urinario y su reflejo en el informe de laboratorio, podría ser de gran utilidad en el diagnóstico temprano de esta patología.

BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. Lehninger AL, Nelson DN, Cox MM. Principios de bioquímica. Barcelona: Omega; 2015.
2. Bollée G, Harambat J, Bensman A, Knebelmann B, Daudon M, Ceballos-Picot I. Adenine Phosphoribosyltransferase Deficiency. *CJASN*. 2012. 7(9):1521-7. Disponible en: <https://cjasn.asnjournals.org/lookup/doi/10.2215/CJN.02320312>
3. Bollée G, Dollinger C, Boutaud L, Guillemot D, Bensman A, Harambat J, et al. Phenotype and genotype characterization of adenine phosphoribosyltransferase deficiency. *JASN*. 2010. 21(4):679-88. Disponible en: <https://jasn.asnjournals.org/lookup/doi/10.1681/ASN.2009080808>
4. Kamatani N, Terai C, Kuroshima S, Nishioka K, Mikanagi K. Genetic and clinical studies on 19 families with adenine phosphoribosyltransferase deficiencies. *Hum Genet*. 1987. 75(2):163-8. Disponible en: <http://link.springer.com/10.1007/BF00591080>
5. Edvardsson V, Palsson R, Olafsson I, Hjaltadottir G, Laxdal T. Clinical features and genotype of adenine phosphoribosyltransferase deficiency in Iceland. *American Journal of Kidney Diseases*. 2001. 38(3):473-80. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S027263860140610X>
6. Runolfsson HL, Palsson R, Agustsdottir IM, Indridason OS, Edvardsson VO. Kidney disease in adenine phosphoribosyltransferase deficiency. *American Journal of Kidney Diseases*. 2016. 67(3):431-8. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S027263861501344X>
7. Edvardsson VO, Runolfsson HL, Thorsteinsdottir UA, Sch. Agustsdottir IM, Oddsdottir GS, Eiriksson F, et al. Comparison of the effect of allopurinol and febuxostat on urinary 2,8-dihydroxyadenine excretion in patients with Adenine phosphoribosyltransferase deficiency (Aprtd): A clinical trial. *European Journal of Internal Medicine*. 2018. 48:75-9. Disponible en: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0953620517304156>
8. Daudon M, Frochot V, Bazin D, Jungers P. Crystalluria analysis improves significantly etiologic diagnosis and therapeutic monitoring of nephrolithiasis. *Comptes Rendus Chimie*. 2016.19(11-12):1514-26. Disponible

en:

[https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S163107481](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1631074816301096)

6301096

BLOQUE VIII

ONCOLOGÍA

27-LINFOMA T ANAPLÁSICO ALK + Y SÍNDROME HEMOFAGOCÍTICO ASOCIADO

Autores: Rodrigo Íñiguez García, María Poza Santaella, Antonia Rodríguez Izquierdo

Servicio de Hematología y Hemoterapia, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid.

Palabras clave: Hematología, Citología, Inmunohistoquímica

1. INTRODUCCIÓN

Los linfomas T periféricos representan menos del 15% de todos los linfomas, siendo el linfoma anaplásico de células grandes uno de los más frecuentes, el cual constituye el 3% de todos los linfomas no Hodgkin en adultos y el 10-20% en la infancia. Generalmente tienen un comportamiento agresivo y en aproximadamente el 50-60% presentan translocaciones en el gen ALK (*Anaplastic Lymphoma Kinase* gene), que se localiza en el cromosoma 2p23.

Una complicación grave del linfoma T anaplásico es el desarrollo de un Síndrome hemofagocítico (SHF). Esta complicación se diagnostica en aproximadamente el 23% de todos los pacientes con linfomas T y se asocia con un pronóstico significativamente peor. La mediana de supervivencia global en estos casos es de menos de 1 año.

2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

2.1 Motivo de consulta:

Varón de 38 años, natural de Moldavia, sin antecedentes personales ni familiares de interés que acude a Urgencias por sintomatología B consistente en astenia, sudoración nocturna y pérdida de peso, con aparición de una masa indurada inguinal izquierda de una semana de evolución que asocia dolor irradiado a región genital.

2.2 Exploración física:

El paciente presenta febrícula con tensión arterial y saturación de oxígeno basal normales. El abdomen es blando, sin signos de irritación peritoneal y se palpa esplenomegalia de 3 traveses de dedo y hepatomegalia de 4 traveses de dedo bajo reborde costal. Además, se palpa masa inguinal izquierda de 4 cm, indurada y dolorosa, no fluctuante, sin signos de infección cutánea. No se palpan adenopatías en otras localizaciones.

3. INFORME DEL LABORATORIO

A su ingreso presentaba un hemograma normal salvo por linfopenia de $0.4 \times 1000/\mu\text{L}$. Destacaba la elevación de la lactato deshidrogenasa (803 U/L), hipertransaminasemia (AST 82 U/L y ALT 73 U/L), beta-2 microglobulina elevada (5.6 mg/L), alteración del metabolismo férrico (ferritina de 971 ng/ml, con hierro de 49 $\mu\text{g/dL}$) y elevación de vitamina B12 (803.30 pg/ml). El resto de parámetros son normales.

En los primeros días de ingreso el paciente presenta importante deterioro respiratorio con aparición de insuficiencia respiratoria aguda que requiere ingreso en

Unidad de Cuidados Intensivos para recibir oxigenoterapia con gafas nasales de alto flujo. Se asocian también picos febriles persistentes por lo que se inicia cobertura antibiótica de amplio espectro.

Análíticamente desarrolla citopenias con progresiva profundización (nadir de hemoglobina 9,6 g/dL, plaquetas $66 \times 1.000/\mu\text{L}$ y neutrófilos $800 \times 1.000/\mu\text{L}$). Se objetiva un rápido y grave empeoramiento del perfil hepático, alcanzando unas transaminasas de ALT/AST 1206/1139 U/L, una gamma-GT de 1296 U/L, una fosfatasa alcalina de 887 U/L y una bilirrubina de 3,7 mg/dL. La LDH alcanza su máximo en 2275 U/L. También se elevan los reactantes de fase aguda (Proteína C Reactiva 11,44 mg/dL y ferritina 28.519 ng/ml). La evolución de los parámetros analíticos se muestran en las figuras 1 y 2.

4. DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES

Con la sospecha de un síndrome hemofagocítico (SHF), se solicita un CD25 soluble que resulta elevado (3691 U/ml), una extensión de sangre periférica en la que se observan macrófagos circulantes (Figura 3) y un estudio de médula ósea en el que se objetivan datos de hemofagocitosis (Figuras 4 y 5). Aplicando el H-Score, como herramienta diagnóstica orientativa de SHF, se obtiene una puntuación de 271 (probabilidad >99%). Ver tabla 1.

En el diagnóstico diferencial del SHF secundario se encuentra el asociado a neoplasias hematológicas, enfermedades autoinmunes e infecciones por bacterias, micobacterias o virus.

- Neoplasias hematológicas: se ha descrito SHF en linfomas B y T, síndromes mielodisplásicos, linfoma de Hodgkin y leucemias agudas. La prevalencia de SHF secundario en las neoplasias hematológicas puede ser de hasta un 0.9%, siendo más elevada en linfomas no Hodgkin B (linfoma intravascular de células B y linfoma de células B sin afectación adenopática) o T (linfoma nasal de células T/NK o subtipo paniculitis-like).
- Enfermedades autoinmunes: cuando asocian un SHF, nos referimos a él como síndrome de activación macrófagica (SAM). Frecuentemente es desencadenado por el lupus eritematoso sistémico, aunque otras asociaciones menos habituales son la artritis reumatoide, la artritis idiopática juvenil sistémica, la polimiositis, la dermatomiositis, la esclerosis sistémica y la vasculitis. Se puede desarrollar SAM en cualquier momento del curso de la enfermedad, incluido el debut.

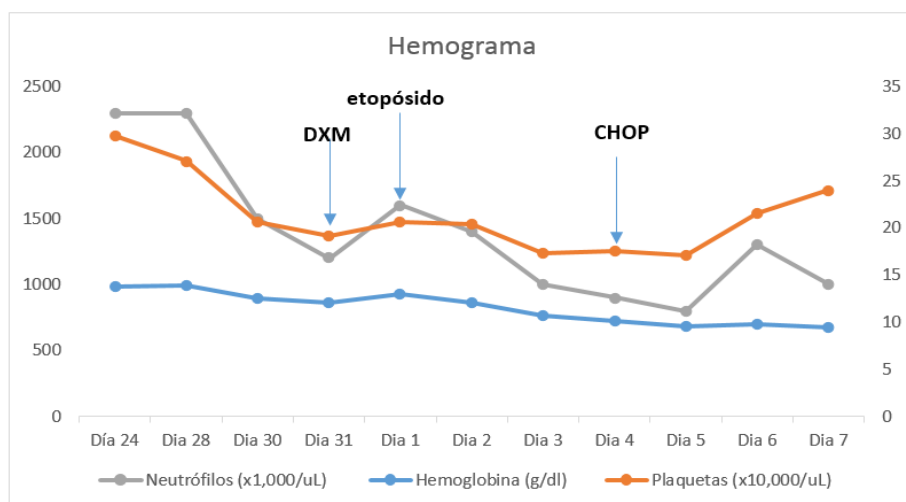


Figura 1. Evolución analítica de los parámetros hematimétricos más relevantes desde el momento del ingreso. Elaboración propia.

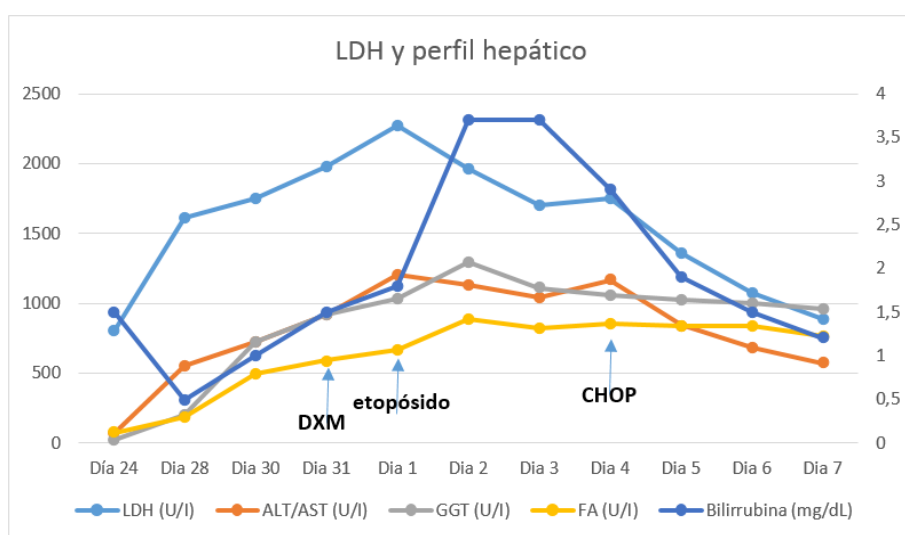


Figura 2. Evolución analítica del perfil hepático desde el momento del ingreso. Elaboración propia.

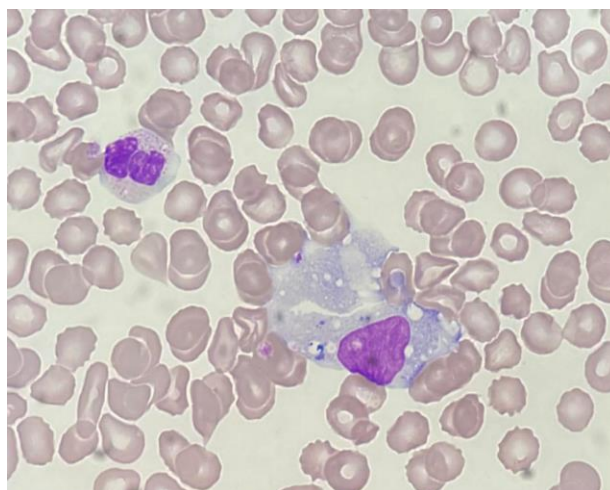
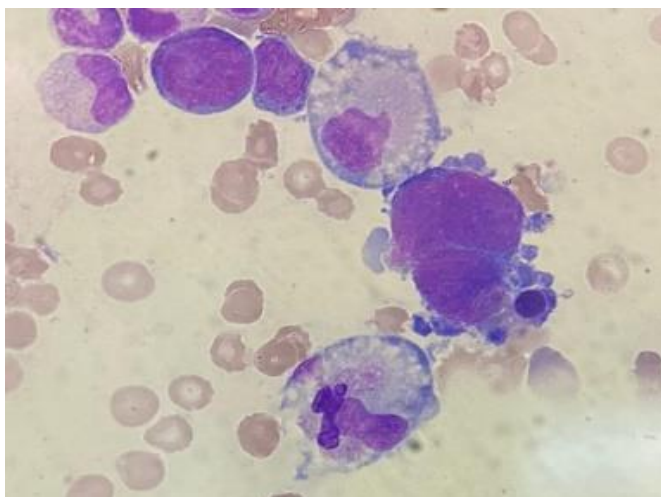
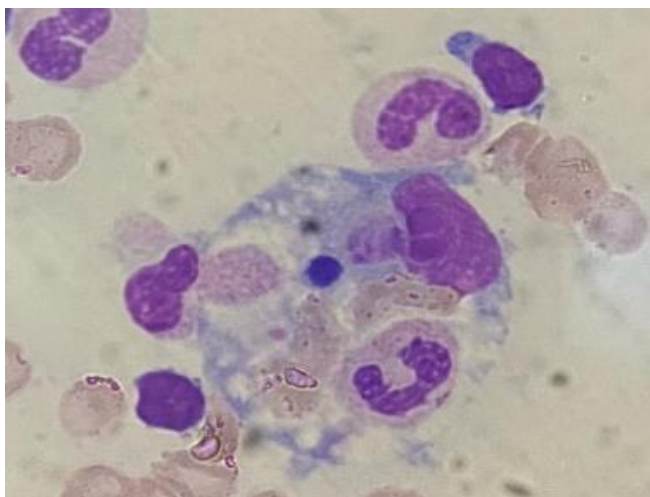


Figura 3. Macrófago objetivado en frotis de sangre periférica.



Figuras 4 y 5. Histiophagocitosis en aspirado de médula ósea.

- Infecciones: las virales son las que causan más frecuentemente SHF, seguidas de las infecciones por micobacterias (*Mycobacterium tuberculosis*), bacterias (*Rickettsia*, *Escherichia coli*) y hongos (histoplasmosis). La primoinfección por el virus Epstein Barr (VEB) es el proceso primario objetivado más frecuentemente y se cree que es debido a la proliferación clonal e hiperactivación de las células T infectadas por el virus. Otros virus relacionados son el citomegalovirus, el virus de la inmunodeficiencia humana, el parvovirus, los virus de la familia herpes, el virus influenza, el SARS-CoV-2 y el norovirus.
- Iatrogenia: trasplante sólido o de médula ósea, inhibidores del check-point, anticuerpos bispecíficos, CAR-T...

En nuestro caso, la presencia de sintomatología B, una masa adenopática en localización inguinal con hepatoesplenomegalia palpable a la exploración física, junto con la elevación de la beta-2-microglobulina y en ausencia

de antecedentes relevantes o iatrogénicos, nos hace sospechar una neoplasia hematológica subyacente tipo linfoma.

5. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

5.1 TAC toraco-abdomino-pélvico:

Se objetiva hepatoesplenomegalia y adenopatías de localización retroperitoneal e iliaca. La más llamativa a nivel del canal femoral izquierdo de localización superficial.

5.2 Anatomía patológica de biopsia con aguja gruesa de adenopatía inguinal:

Se observan células linfomatosas (Figura 6) de fenotipo T que coexpresan CD8, CD30 y ALK (citoplasmático y nuclear). Hay presentes folículos linfoides residuales en asociación con la red de células dendríticas, que se encuentra distorsionada. También se observan abundantes histiocitos acompañantes y linfocitos citotóxicos (CD8+,

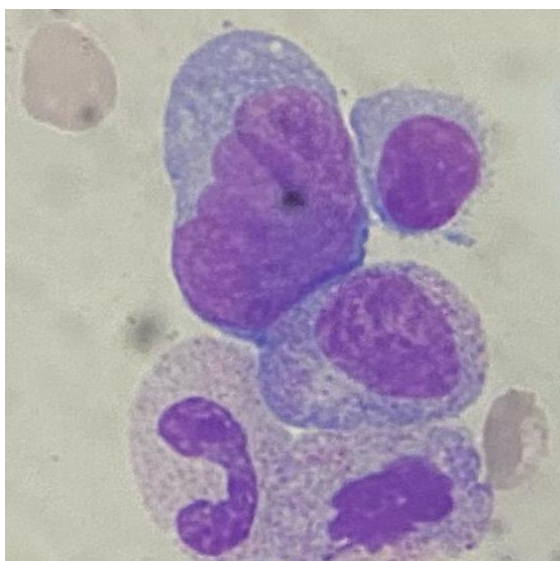


Figura 6. Célula linfomatosa objetivada en el aspirado de médula ósea de nuestro paciente.

perforina+, granzyma+). Presenta un índice proliferativo (MIB1) del 15-20%. El estudio FISH muestra translocación del gen ALK.

El estudio citológico de médula ósea (MO) muestra de forma aislada células de hábito linfoide atípicas, compatibles con linfoma de alto grado, sin embargo, el estudio histológico no muestra infiltración por linfoma. Sí se observan abundantes imágenes de hemofagocitosis.

5.3 Biopsia de médula ósea:

Variables	Criterios diagnósticos	Score
Inmunosupresión	VIH+ o terapia inmunosupresora de larga evolución (glucocorticoides, ciclosporina...)	+18
Organomegalia	Hepatomegalia o esplenomegalia	+23
	Hepatomegalia y esplenomegalia	+38
Citopenias^a	Bicitopenia	+24
	Pancitopenia	+34
Ferritinemia	2000 - 6000 ng/ml	+35
	> 6000 ng/ml	+50
Triglicéridos	130 - 350 mg/dL	+44
	> 350 mg/dl	+64
Fibrinógeno	< 250 mg/dl	+30
AST	> 30 U/L	+19
Aspirado MO	Con Hemofagocitosis	+35
Temperatura corporal	38.4 – 39.4°C	+33
	> 39.4°C	+49
Si el score > 169: sensibilidad 93% y especificidad 86% para el diagnóstico de HLH.		
^a Hemoglobina < 9.2 g/dl; leucocitos < 5 x10 ⁹ /L; plaquetas < 110 x10 ⁹ /L.		

Tabla 1. Variables aplicadas en el H-Score(1).

6. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Linfoma T anaplásico de células grandes ALK positivo con síndrome hemofagocítico secundario.

7. EVOLUCIÓN

Con el diagnóstico de SHF y debido al deterioro de la función hepática, se inicia tratamiento con dexametasona y etopósido a 150mg/m². Tras la confirmación del diagnóstico de linfoma anaplásico T de células grandes ALK+ se inicia tratamiento quimioterápico con vincristina, adriamicina, ciclofosfamida y corticoides.

Tras instaurar estas medidas terapéuticas, se objetiva progresivo descenso de enzimas hepáticas, LDH, PCR, ferritina y mejoría de las citopenias. Además, a la exploración física destaca disminución del tamaño del conglomerado inguinal.

En los siguientes ciclos, se modifica el tratamiento quimioterápico, suspendiéndose vincristina y añadiéndose brentuximab vedotin.

8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

El linfoma T anaplásico de células grandes ALK+ está constituido por linfocitos T citotóxicos activados. La traslocación cromosómica que afecta a la región 2p23, produce la activación constitutiva de la proteína ALK. Este linfoma es más frecuente en las primeras tres décadas de la vida y muestra predominancia por el sexo masculino (1,5:1). El 70% de los pacientes se diagnostica en estadio III-IV. Afecta típicamente territorios ganglionares (periféricos y abdominales) y extraganglionares como piel, hueso (30% afectación medular), partes blandas, pulmones e hígado. Al debut el 75% de los pacientes presenta sintomatología B, especialmente fiebre alta.

En lo que respecta al diagnóstico, en el 60% de los casos la anatomía patológica describe una proporción variable de células grandes con citoplasma claro amplio y núcleo excéntrico arriñonado, cromatina finamente agrupada o dispersa con múltiples nucleolos y una región eosinofílica perinuclear. Otros patrones de morfología tumoral son el linfocitocítico (10%), el de célula pequeña (5-10%), Hodgkin-like (3%) y el patrón compuesto (15%), en el que se combinan varios patrones en la misma biopsia.

Por inmunofenotipo, las células tumorales son positivas para CD30, EMA y para uno o varios antígenos de célula T (CD2, CD4 y CD5 suelen ser positivos, sin embargo CD3 y CD8 suelen ser negativos). La mayoría de los casos también son positivos para los antígenos citotóxicos (TIA1, granzima B, perforina), siendo normalmente BCL2 y VEB negativos (EBER, LMP1). En cuanto a la proteína ALK, su expresión está ausente en todas las células humanas postnatales, salvo raras células cerebrales, por lo que la inmunohistoquímica con anticuerpos anti-ALK ha suplantado los estudios moleculares para el diagnóstico de este linfoma. Es típico que con esta tinción se tiñan tanto el citoplasma como el núcleo.

En cuanto al estudio genético, el gen ALK codifica un receptor tirosina quinasa perteneciente a la superfamilia de receptores de insulina, que normalmente es silencioso en células linfoides. La alteración genética más frecuente es la translocación t(2;5)(p23;q35) entre el gen ALK en el cromosoma 2 y el gen NPM1 en el cromosoma 5. Esto produce una proteína quimérica formada por la porción N-terminal de NPM1 y la porción intracitoplasmática de ALK. La formación de estos homodímeros NPM1-ALK usando sitios de dimerización en el extremo N de NPM1 imita la unión del ligando y es responsable de la activación basal del dominio catalítico de ALK y de múltiples cascadas señalizadoras (RAS-ERK, JAK/STAT, PIK-AKT) que comprenden el potencial oncológico. Sin embargo, también se han descrito otras translocaciones sin que existan diferencias pronósticas entre ellas. Todas estas translocaciones resultan en la activación constitutiva y la expresión aberrante de ALK, aunque su distribución subcelular puede variar en función del partner genético con el que se transloque ALK. Para el diagnóstico no es obligatorio la realización del cariotipo o el uso de sondas ALK break-apart si la inmunohistoquímica es positiva para ALK; sin embargo, son características la pérdida del 4, 11q y 13q, así como la ganancia del 7, 17p y 17q. La RT-PCR se reserva para la detección de enfermedad mínima residual en sangre periférica o médula ósea.

El tratamiento estándar de este linfoma es quimioterapia tipo CHOP o CHOP-like y ningún otro tratamiento había demostrado una ventaja en la supervivencia comparada con CHOP, hasta que en el año 2020 se publicaron los resultados del ensayo clínico ECHELON 2 que comparaba CHOP vs CHP más brentuximab vedotin (anti-CD30) obteniendo una supervivencia libre de progresión de 48.2 meses con CHP+BV vs 20 meses con CHOP. Esta estrategia de tratamiento también demostró una ventaja en la supervivencia global y en la calidad de vida. Las recaídas suelen seguir siendo sensibles a la quimioterapia y el trasplante alogénico de médula ósea puede ser eficaz en estos casos. Otra opción terapéutica son los inhibidores de ALK. La tasa de supervivencia a largo plazo asociada con este linfoma es del 80%, y es globalmente mejor que la de los linfomas anaplásicos T ALK-, que aparecen a una edad mayor. Sin embargo, cuando sólo se analizan pacientes menores de 40 años, los resultados entre linfomas T ALK+ y ALK- son similares.

El SHF es un síndrome hiperinflamatorio potencialmente mortal caracterizado por la hiperproducción de citocinas proinflamatorias (interferón-gamma, factor de necrosis tumoral-alfa e interleucinas 1, 6, 10, 12, 18) secundaria a la activación incontrolada de histiocitos, macrófagos, linfocitos citotóxicos y células NK, que infiltran los tejidos y producen disfunción orgánica. Puede ser primario (genético) o secundario (adquirido). La primera forma es más frecuente en niños y se debe a mutaciones con herencia mendeliana que afectan a la citotoxicidad linfocitaria y a la regulación del inflamósoma. La forma adquirida es más frecuente en adultos, con una edad media de presentación a los 50 años, con mayor tendencia en varones (65%), y la mitad de los casos descritos provienen de Asia. La etiología más frecuente son las neoplasias hematológicas (50%), las infecciones virales (25%) y las enfermedades autoinmunes (20%).

ya que puede estar aumentada de forma fisiológica en múltiples

A. Diagnóstico molecular de mutaciones patogénicas:	PRF1, UNC13D, Munc18-2, RAB27A, STX11, SH2D1A o BIRC4, o
B. 5 de los siguientes criterios:	Fiebre $\geq 38.5^{\circ}\text{C}$ Esplenomegalia, Citopenias (Hemoglobina < 9 g/dL, Plaquetas $< 10.000/\mu\text{L}$, Neutrófilos $< 1.000/\mu\text{L}$), Hipertrigliceridemia (en ayuno, > 265 mg/dL) o hipofibrinogenemia (< 150 mg/dL) Hemofagocitosis en médula ósea, ganglios linfáticos, bazo, hígado Disminución o ausencia de actividad de linfocitos NK, Ferritina > 500 ng/DI CD25 soluble ≥ 2400 U/mL.

Tabla 2. Criterios diagnósticos de HLH de la Sociedad del Histiocito de 2004.

Clínicamente se caracteriza por un cuadro de instauración aguda o subaguda (1-4 semanas) dominado por fiebre alta persistente ($> 38,5^{\circ}\text{C}$), hepatoesplenomegalia, adenopatías y afectación multiorgánica progresiva, precisando soporte en Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) hasta en el 40% de los casos. La afectación multiorgánica puede ser cutánea (exantema, edemas, petequias, nódulos subcutáneos tipo paniculitis), hepática (muy frecuente y variable, desde una leve alteración de las pruebas de función hepática hasta un fallo hepático fulminante), pulmonar (insuficiencia respiratoria aguda y distrés respiratorio), gastrointestinal (diarrea, náuseas, vómitos y dolor abdominal), neurológica (convulsiones, meningitis, hemorragia cerebral, alteraciones psiquiátricas, coma...), renal (insuficiencia renal, síndrome nefrótico) y, por último, hematológica (crecimiento de órganos linfopoyéticos, mieloptisis y CID).

El diagnóstico se basa en la coexistencia de hallazgos clínicos, analíticos e histológicos, aunque ninguno de ellos es patognomónico. La Sociedad del Histiocito estableció unos criterios diagnósticos (tabla 2), ampliamente utilizados en adultos, cuya sensibilidad y especificidad no han sido evaluadas. Es fundamental distinguir si el cuadro clínico del paciente se debe a un SHF o a una presentación agresiva de las enfermedades vinculadas a ella. Es muy sugestivo de SHF la evidencia de hemofagocitosis junto con marcadas hipofibrinogenemia, hipertrigliceridemia e hiperferritinemia (> 10.000 ng/ml). Además, si la activación macrofágica es importante, es posible objetivar la presencia de macrófagos en el frotis de sangre periférica, lo cual no suele ser una situación fisiológica. La demostración de hemofagocitosis en médula ósea (preferentemente) o en órganos reticuloendoteliales no es imprescindible para el diagnóstico,

situaciones (infecciones, enfermedades autoinmunes, transfusiones), por lo que su hallazgo debe interpretarse según el contexto clínico del paciente.

En cuanto al tratamiento, se debe iniciar en cuanto exista una alta sospecha clínica y es fundamental conocer las medidas de soporte (transfusiones, fibrinógeno, septrim y azoles profilácticos) e iniciar tratamiento del factor desencadenante, si se conoce.

En pacientes estables se puede usar dexametasona a dosis bajas-intermedias y esperar a tener el diagnóstico del desencadenante para iniciar tratamiento dirigido, aunque en presencia de más de 10.000 copias/ μg de ADN de VEB se puede utilizar Rituximab 375 mg/m² semanal de 1 a 4 semanas.

En pacientes con daño orgánico progresivo, inestables o refractarios al tratamiento inicial deben comenzar con el protocolo de inducción HLH-94(2) de 8 semanas: etopósido 150 mg/m² bisemanal durante las primeras dos semanas y semanal en las semanas 3-8, más dexametasona 10 mg/m² diaria en dosis decrecientes durante 8 semanas. En caso de focalidad neurológica, alteraciones analíticas del líquido cefalorraquídeo o de la resonancia magnética cerebral tras 2 semanas de inducción se debe iniciar la terapia intratecal con 12 mg de metotrexato semanal e hidrocortisona tan pronto como la cifra de plaquetas y el estado de coagulación se corrijan y mantenerlo mínimo hasta 1 semana después de desaparecidas las alteraciones.

Las recaídas no son infrecuentes y pueden acontecer en el seno de la retirada o disminución del tratamiento inductor inicial, por lo que es fundamental la valoración cuidadosa de cada nuevo episodio febril en estos pacientes. Si se objetiva

mejoría clínica tras completar la fase de inducción se debe suspender el tratamiento. Sin embargo, en caso de persistencia de síntomas sin mejoría clínica ni analítica se debe iniciar el tratamiento de mantenimiento: ciclosporina 6 mg/kg diarios empezando en la semana 9, etopósido 150 mg/m² quincenal alternando con pulsos de dexametasona 10 mg/m² durante 3 días seguidos.

En casos refractarios al tratamiento estándar se pueden utilizar otros inmunosupresores (metotrexato, ciclofosfamida), el régimen DEP (doxorrubicina, etoposido y metilprednisolona) o CHOP + etopósido, inmunoglobulinas intravenosas, terapias biológicas (ruxolitinib, emapalumab, alemtuzumab) o plasmaféresis. El trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos (aloTPH) se realiza tras el mantenimiento HLH-94 y está indicado en SHF primario, daño del sistema nervioso central, falta de respuesta a la terapia de inducción o recaída de la enfermedad. Se recomienda un acondicionamiento reducido (tasas de supervivencia de 75-100%) excepto en los casos de neoplasia hematológica que requiera un acondicionamiento mieloablativo.

El pronóstico varía según la enfermedad de base, siendo peor en neoplasias que en primoinfecciones víricas y enfermedades autoinmunes. La mortalidad global puede alcanzar el 41%, existiendo dos picos de mortalidad: uno en las primeras semanas de enfermedad por disfunción multiorgánica y otro más tardío relacionado con la toxicidad de los tratamientos.

BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. Hejblum G, Lambotte O, Galicier L, Coppo P, Marzac C, Aumont C, et al. A web-based delphi study for eliciting helpful criteria in the positive diagnosis of hemophagocytic syndrome in adult patients. *PloS One*. 7 de abril de 2014;9(4):e94024-e94024.
2. Henter J-I, Horne A, Aricó M, Egeler RM, Filipovich AH, Imashuku S, et al. HLH-2004: Diagnostic and therapeutic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr Blood Cancer*. 1 de febrero de 2007;48(2):124-31.

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Janka GE, Lehmborg K. Hemophagocytic syndromes— an update. *Blood Rev*. 2014;28:135-142
- Shustov A., Soma L. (2019) Anaplastic Large Cell Lymphoma: Contemporary Concepts and Optimal Management. In: Querfeld C., Zain J., Rosen S. (eds) T-Cell and NK-Cell Lymphomas. Cancer Treatment and Research, vol 176. Springer, Cham.
- Leventaki V, Bhattacharyya S, Lim MS. Pathology and genetics of anaplastic large cell lymphoma. *Updat Mature T-Cell LymphomasLeukemias*. 1 de enero de 2020;37(1):57-71.
- Castillo JJ, Beltran BE, Malpica L, Marques-Piubelli ML, Miranda RN. Anaplastic lymphoma kinase-positive large B-cell lymphoma (ALK+ LBCL): a systematic

review of clinicopathological features and management. *Leuk Lymphoma*. 21 de junio de 2021;1-9.

- Swerdlow, S. H. (2017). WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: International Agency for Research on Cancer.
- Horwitz S, O'Connor OA, Pro B, Illidge T, Fanale M, Advani R, et al. ECHELON-2 Study Group. Brentuximab vedotin with chemotherapy for CD30-positive peripheral T-cell lymphoma (ECHELON-2): a global, double-blind, randomised, phase 3 trial. *Lancet*. 2019 Jan 19;393(10168):229-240.
- Jordan MB, Allen CE, Greenberg J, et al. Challenges in the diagnosis of hemophagocytic lymphohistiocytosis: Recommendations from the North American consortium for Histiocytosis (NACHO). *Pediatr Blood Cancer* 2019; 66:e27929.
- Pro B, Advani R, Brice P, et al. Brentuximab vedotin (sgn-35) in patients with relapsed or refractory systemic anaplastic large cell lymphoma: results of a phase ii study. *J Clin Oncol*. 2012.

28-ADENOCARCINOMA GINECOLÓGICO CON AFECTACIÓN PERITONEAL Y PLEURAL

Autores: Esther Carolina Tamayo Hernández, Fernando Calvo Boyero.

Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid.

Palabras clave: Células atípicas, Líquidos serosos, Marcadores tumorales.

1. INTRODUCCIÓN

Aunque la mayoría de pruebas de laboratorio se realizan en muestras de sangre, orina y heces, también resultan de gran utilidad los análisis efectuados en muestras de líquidos serosos, pues proporcionan información adicional sobre lo que está ocurriendo en el interior de las cavidades corporales. Estas muestras se reciben con menor frecuencia, entre otras causas por la dificultad en su obtención, ya que requieren la introducción de una aguja en la cavidad en cuestión seguida del drenaje del fluido con una jeringa.

El presente caso clínico se centra en la utilidad diagnóstica de los líquidos serosos, en particular del líquido peritoneal y pleural. Los líquidos serosos son líquidos corporales que derivan del plasma por filtración y que se localizan en las cavidades peritoneal, pleural y pericárdica. Estas cavidades se encuentran recubiertas por una membrana denominada mesotelio, formada por dos capas de células, una capa visceral que rodea inmediatamente al órgano y una capa parietal que recubre las paredes corporales. En condiciones normales hay una pequeña cantidad de líquido en el interior de la cavidad, pero cuando los mecanismos de producción y reabsorción del líquido se ven alterados, se puede producir un exceso del mismo, generándose así un derrame seroso.

2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

2.1 Motivo de consulta:

En la presente revisión se aborda el caso de una mujer de 47 años que refiere presentar desde el mes previo a su llegada a urgencias un aumento del perímetro abdominal progresivo, sin edemas ni disnea, junto a náuseas e hiporexia, sin referir vómitos, astenia o cambios en la menstruación. No destaca otra clínica de interés.

2.2 Antecedentes personales:

- No existen datos de hipertensión arterial, ni diabetes mellitus ni dislipemia conocidas.
- Fumadora de 10-15 cigarros al día desde hace 5 años.
- No bebedora.
- Artrogriposis congénita con múltiples intervenciones para conseguir mejorar la movilidad articular; pudiendo caminar pero con escasa movilidad en los miembros superiores.
- Rinitis vasomotora.

2.3 Antecedentes familiares:

Antecedentes familiares de Factor V de Leiden. Paciente no portadora de la mutación.

2.4 Enfermedad actual:

No constan enfermedades actuales.

2.5 Exploración física:

- Tensión sistólica (mmHg): 118.
- Tensión diastólica (mmHg): 64.
- Tensión arterial media (mm Hg): 75.
- Frecuencia cardíaca (latidos/min): 108.
- Dolor en reposo: 0.

Presenta, asimismo, buen estado general, encontrándose consciente y orientada, bien nutrida, hidratada y perfundida, normocoloreada y eupneica. Se le coloca, además, una vía central yugular izquierda. En lo que respecta al tórax, la exploración muestra mamas sin nódulos ni adenopatías axilares. Con ruidos cardíacos rítmicos y sin soplos. Hipofonesis en bases. A nivel abdominal, ruidos hidroaéreos presentes, abdomen blando, no doloroso, no evidencias de ascitis a tensión, no se palpan masas ni megalias. Destacan miembros superiores hipoplásicos. En los miembros inferiores se perciben mínimos edemas con fovea, sobre todo linfedema. Finalmente, no se evidencian signos de isquemia arterial.

3. INFORME DEL LABORATORIO

En su analítica de ingreso se evidencia trombocitosis junto con elevación de lactato deshidrogenasa (LDH). Se realiza paracentesis diagnóstica y terapéutica extrayéndose más de dos litros de líquido cuyos resultados están recogidos en la Tabla 1.

Como se puede observar en la bioquímica del líquido peritoneal destaca la elevación de LDH hasta 1.314 U/L y de proteínas hasta 4,4 g/dL. En lo que respecta a los criterios de Light, el cociente de LDH entre líquido y suero mayor de 0,6 y el cociente de proteínas mayor de 0,5 orienta a un derrame de tipo exudado.

En el estudio de celularidad del líquido tras citocentrifugación y tinción de Giemsa-Wright se evidencia predominio de células mononucleadas de carácter basófilo, con grandes vacuolas y agrupaciones en nido, como se observa en la Figura 1.

Ante la sospecha de posible malignidad del líquido debida a la elevación de LDH, la morfología celular observada al microscopio y el carácter exudativo del líquido, desde el Laboratorio de Bioquímica se le recomienda al médico peticionario la derivación de muestra al servicio de Anatomía Patológica para la realización de un estudio anatomopatológico que aclare la posible malignidad del derrame.

4. DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES

Debido a los resultados de laboratorio y las exploraciones efectuadas, el diagnóstico diferencial de la paciente incluye:

- Causas infecciosas: Tuberculosis.
- Causas tumorales: Carcinomatosis peritoneal.

- Enfermedades granulomatosas.
- Vasculitis.
- Trombocitosis leve.

5. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

A raíz de las imágenes obtenidas y los resultados arrojados por el laboratorio se le ingresa y se le solicitan marcadores tumorales en suero, obteniéndose un antígeno carcinoembrionario (CEA) de 0,43 ng/dL y los antígenos carbohidratos CA125 de 870 UI/mL y CA19.9 de 19,30 UI/mL. En la tabla 2 se muestran los resultados de la paciente junto con los valores de referencia establecidos para dichos marcadores tumorales.

BIOQUÍMICA DEL LÍQUIDO PERITONEAL		
Parámetro	Líquido peritoneal	Suero
Glucosa	44 mg/dL	67 mg/dL
Proteínas	4,4 g/dL	5,7 mg/dL
Cociente Proteínas L/S	0,7 g/dL	
Albúmina	2,8 g/dL	3,4 mg/dL
Triglicéridos	66 mg/dL	No solicitado
LDH	1.314 U/L	356 U/L
Cociente LDH L/S	3,7 U/L	
CELULARIDAD DEL LÍQUIDO PERITONEAL		
Hematíes	3.107 células/microlitro	
Leucocitos	1.577 células/microlitro	
Leucocitos polimorfonucleares	25%	
Leucocitos mononucleares	75%	
	Comentario: Se observan células mononucleadas de difícil clasificación. Se recomienda estudio por anatomía patológica.	

Tabla 1. Parámetros bioquímicos y celularidad en líquido peritoneal. L/S: Líquido peritoneal/Suero. Elaboración propia.

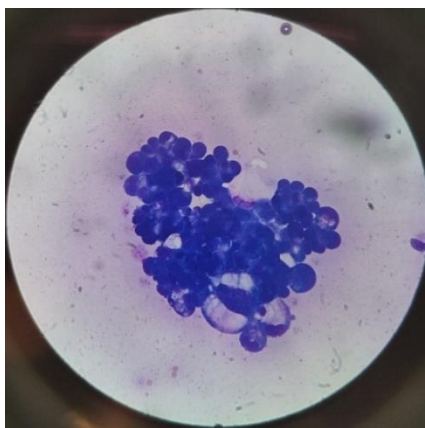


Figura 1. Células atípicas en líquido ascítico vistas en microscopio óptico a 40x tras citocentrifugación y tinción con Giemsa-Wright. Elaboración propia.

MARCADOR TUMORAL	RESULTADO EN SUERO	RANGO DE REFERENCIA
CEA	0,43 ng/dL	0 - 5 ng/dL
CA 125	870 UI/mL	0 – 35 UI/mL
CA 19.9	19,30 UI/mL	0 – 34 UI/MI

Tabla 2. Marcadores tumorales en suero de la paciente. Elaboración propia.

Aunque bien es cierto que el CA125 es un marcador tumoral asociado a carcinoma de ovario, se trata de una mucina producida por los epitelios celómicos, de manera que puede encontrarse elevado en procesos benignos como los derrames serosos, al igual que ocurre con la paciente.

Se le realiza también una mamografía en dos proyecciones y una ecografía de mama bilateral donde no se aprecian hallazgos significativos por lo que el juicio clínico por confirmar sería ascitis sin datos de hipertensión portal aún a estudio con probable carcinomatosis peritoneal de etiología ovárica.

Finalmente, el estudio mediante tomografía axial computerizada (TAC) arroja signos de carcinomatosis peritoneal, con hallazgo sugerente de neoplasia ovárica primaria como primera posibilidad, derrame pleural bilateral en cuantía moderada menos importante y fracturas costales izquierdas de aspecto reciente.

La gammagrafía ósea solicitada no muestra signos de fracturas patológicas y, finalmente, la anatomía patológica del líquido ascítico establece el diagnóstico de adenocarcinoma de ovario. Una vez presentada en el Comité de Tumores se solicita una biopsia con aguja gruesa (BAG) del epiplón y estudio anatómo-patológico de líquido pleural para que sea tratada con quimioterapia neoadyuvante.

Por ello, se realiza una toracocentesis evacuadora en la que se obtienen 100 centímetros cúbicos de líquido pleural del hemitórax izquierdo, realizando un análisis bioquímico (Tabla 3) y de celularidad (Figura 2).

Como se observa, en el líquido pleural de la paciente se cumplen también los criterios de Light para exudado y se observan células atípicas, por lo que es preciso realizar también un estudio anatomopatológico del mismo.

6. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

En base a los estudios de imagen y pruebas de laboratorio y de anatomía patológica se diagnostica de adenocarcinoma de origen ginecológico con afectación pleural y peritoneal.

7. EVOLUCIÓN

Se traslada a la paciente de Ginecología a Oncología Médica para valorar tratamiento sistémico. Ha requerido realización de paracentesis y toracocentesis de repetición y la colocación de un tubo de tórax durante el ingreso.

Se evidencia una notable mejoría de la disnea tras colocación de tubo de tórax con adecuada reexpansión pulmonar, pudiéndose finalmente retirar el drenaje.

Inicia entonces un tratamiento quimioterápico con carboplatino y paclitaxel, evidenciándose una respuesta

favorable, por lo que se efectúa una cirugía de intervalo y se continúa con el tratamiento quimioterápico.

8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

Ante el hallazgo de células atípicas en líquido hay que valorar la posibilidad de que se trate de un derrame secundario a un tumor metastásico, pues las células metastásicas obstruyen los vasos linfáticos de drenaje impidiendo la reabsorción del líquido. Los derrames pleurales de origen metastásico suelen asociarse principalmente a tumores de origen pulmonar y mamario, mientras que en los peritoneales predomina la causa gastrointestinal y ovárica.

De acuerdo con Anna Merino¹, las células cancerosas presentan unas características típicas que facilitan su identificación desde el Laboratorio de Urgencias:

- Predominio de células de gran tamaño.
- Aparición de nidos de células con citoplasmas unidos dando aspecto sincitial.
- Citoplasma de aspecto basófilo.
- Mitosis anómalas.
- Vacuolización marcada del citoplasma.
- Núcleos aumentados en tamaño y número.
- Canibalismo celular, un fenómeno en el que una célula maligna fagocita a otra de carácter maligno también.

El hallazgo de células atípicas en derrames resulta de gran relevancia clínica, pues supone el punto de partida a la hora de orientar el diagnóstico hacia una posible etiología neoplásica. Estos análisis preliminares, junto con la medición de marcadores tumorales en suero o en el propio líquido, permiten caracterizar la etiología de la neoplasia mientras se obtienen los resultados anatomopatológicos definitivos. En este caso particular, la detección de células atípicas tanto en líquido ascítico como en pleural, junto con la notable elevación del marcador tumoral CA125 en suero asociado a origen ginecológico, fueron claves en el diagnóstico provisional de cáncer de ovario metastásico que, posteriormente, se confirmó gracias a las pruebas de imagen y resultados de Anatomía Patológica.

BIOQUÍMICA DEL LÍQUIDO PLEURAL		
Parámetro	Líquido pleural	Suero
pH	7,19	-
Glucosa	17 mg/dL	69 mg/dL
Proteínas totales	3,8 g/dL	6,1 g/dL
Cociente Proteínas Totales L/S	0,6 g/dL	
LDH	1.552 U/L	395 U/L
Cociente LDH L/S	3,9 U/L	
CELULARIDAD DEL LÍQUIDO PLEURAL		
Hematíes	6.484 células/microlitro	
Leucocitos	1.345 células/microlitro Comentario: Se observan células atípicas. Se recomienda realización de estudio anatomopatológico.	
Hematocrito	0,1	
Leucocitos polimorfonucleares	60%	
Leucocitos mononucleares	40%	

Tabla 3. Parámetros bioquímicos y celularidad en líquido pleural. L/S: Líquido pleural/Suero. Elaboración propia.

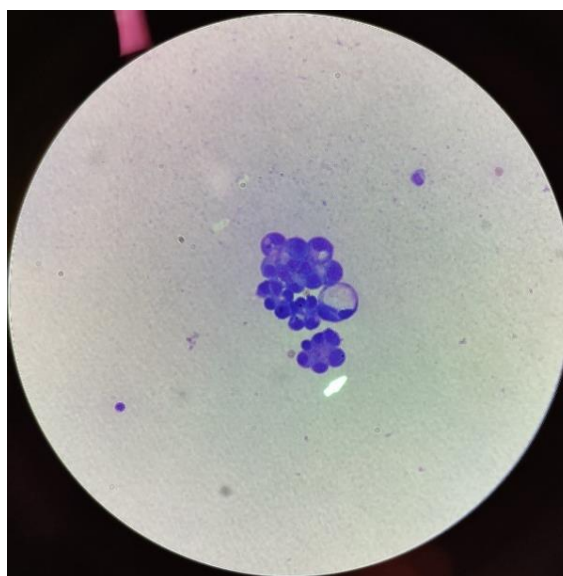


Figura 2. Células atípicas en líquido pleural vistas en microscopio óptico a 40x tras citocentrifugación y tinción con Giemsa-Wright. Elaboración propia.

BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. Merino A, Marín JL. Citología y bioquímica de los líquidos biológicos. Ed Cont Lab Clín. 2017;28:112-135.

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Carr JH, Rodak BF. Atlas de hematología clínica. 5ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2017.
- González Hernández A. Principios de bioquímica clínica y patología molecular. 2ª ed. Barcelona: Elsevier España; 2014.
- Hernández Pachó F. Estudio de los líquidos biológicos por el laboratorio clínico. Jaén: Formación Alcalá; 2017.
- Hermida Lazcano I, Sánchez Tejero E, Nerín Sánchez C, Cordero Bernabé R, Mora Escudero I, Pinar Sánchez J. Marcadores tumorales. Rev Clin Med Fam. 2016;9(1):31-42.
- Santotoribio Camacho JD, Batalha Caetano P. Marcadores tumorales en líquidos biológicos (cefalorraquídeo, pleural y ascítico). Manual de Formación Continuada 2016-2017. 2016;78-92

29-MESOTELIOMA: APOYO DEL LABORATORIO AL DIAGNÓSTICO DEL DERRAME PLEURAL

Autores: Maialen Palomino Alonso, Fernando Calvo Boyero.

Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid.

Palabras clave: Mesotelioma, Citocentrífuga, Ratio CYFRA 21.1/CEA.

1. INTRODUCCIÓN

Los líquidos serosos (pleural, peritoneal y pericárdico) son ultrafiltrados del plasma que se localizan en las cavidades corporales que reciben el mismo nombre. Éstas se encuentran delimitadas por dos membranas, una serosa parietal y otra visceral, las cuales presentan una capa de tejido conectivo con numerosos capilares, vasos linfáticos y células mesoteliales.

El líquido, que cumple su función como lubricante, se forma en la red capilar dependiente tanto de un sistema de presiones (hidrostática y coloidsmótica) como de la permeabilidad capilar. En condiciones normales, el volumen del líquido es mínimo gracias a al equilibrio entre formación y reabsorción linfática. Cuando se alteran los mecanismos fisiológicos, el líquido se acumula y es lo que se conoce como derrame.

El estudio del derrame proporciona información relevante sobre la fisiopatología de los órganos y tejidos donde se sintetiza. Debido a las características de la muestra, el estudio de los líquidos serosos debe hacerse de manera inmediata.

2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

2.1 Motivo de consulta:

Varón de 66 años que acude por tos seca desde hace 3 semanas.

2.2 Antecedentes personales:

Como antecedentes personales indicar que no es fumador, y que trabajó de carpintero ebanista, pero sin exposición al

amianto conocida. No hay descritos antecedentes personales de tuberculosis.

2.3 Antecedentes familiares:

Tampoco hay descritos antecedentes familiares de tuberculosis.

2.4 Enfermedad actual:

El paciente sufre tos seca desde hace unas 3 semanas, asociando disnea progresiva al realizar moderados esfuerzos y astenia. No presenta fiebre, dolor torácico, palpitaciones ni ortopnea. Además, presenta pérdida de unos 8 kg de peso en los últimos 2 años.

2.5 Exploración física:

En la exploración física el paciente presenta buena situación respiratoria, con saturaciones en torno al 94-95%. Se realiza radiografía de tórax en la que destaca derrame pleural izquierdo (Figura 1). Mediante toracocentesis diagnóstica se extrae líquido de aspecto seroso que se envía a los laboratorios de Bioquímica y Microbiología.

3. INFORME DEL LABORATORIO

El líquido recibido en el laboratorio de bioquímica (Tabla 1) cumple los 3 criterios de Light, siendo compatible con un exudado con predominio mononuclear.

Durante el recuento celular, en el escatergrama se aprecia la presencia de una población de células de alto volumen (Figura 2a), por lo que se decide realizar una citocentrifugación del líquido y posterior tinción con Wright-Giemsa. En su observación al microscopio óptico se



Figura 1. Radiografía de tórax donde se aprecia el derrame pleural izquierdo, que ocupa los dos tercios inferiores. Elaboración propia.

observan células atípicas (Figura 2b). Éstas presentan gran tamaño e intensa basofilia. Además, se observan vacuolas grandes y varias células con gránulos secretores, junto con la presencia de sincitios o nidos celulares, donde no es posible discernir el límite entre las células.

Se avisa al servicio peticionario de los hallazgos con lo que remiten muestra a Anatomía Patológica (AP).

Se le realiza al paciente una nueva toracocentesis diagnóstica, para obtener nueva muestra, y también terapéutica, extrayéndose cerca de 1 litro de líquido. Debido

a que el paciente refiere mejoría clínica, se acuerda alta y seguimiento de forma ambulatoria.

A los 5 días acude de nuevo a urgencias por aumento de su tos basal y mayor disnea a mínimos esfuerzos. No presenta expectoración, fiebre ni dolor torácico. Al realizarse una radiografía de tórax se objetiva la reaparición del derrame previamente drenado.

Dado el empeoramiento clínico, con mayor disnea y tos, se realiza nueva toracocentesis para alivio sintomático del paciente.

	Unidades	LP	Suero (VR)	LP/Suero
BIOQUÍMICA				
Proteínas totales	(g/dL)	4,2	7,3 (6,4-8,3)	0,57*
LDH	(U/L)	187	171 (135-225)	1,09*
Glucosa	(mg/dL)	68	98 (70-110)	
RECuento CELULAR				
Hematíes	(céls/ μ L)	3295		
Leucocitos	(céls/ μ L)	2618		
Leucocitos polimorfonucleares	(%)	30		
Leucocitos mononucleares	(%)	70		

Tabla 1. Resultados más destacables del estudio del derrame pleural y suero. LP: líquido pleural; VR: valores de referencia. *Criterios de Light indicativos de exudado: proteínas LP/suero $>0,5$, LDH LP/suero $>0,6$ y LDH $>2/3$ límite superior en suero (225U/L). Elaboración propia.

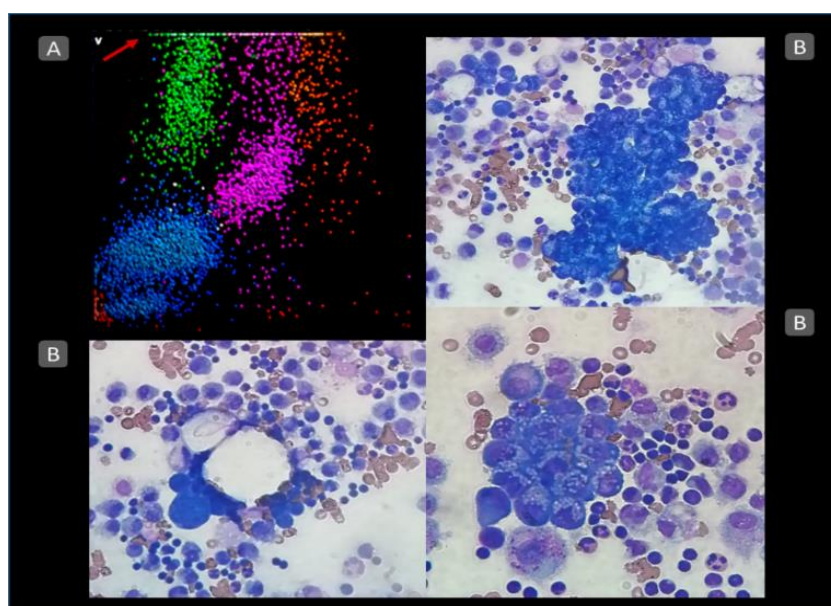


Figura 2. A. Escatergrama obtenido del analizado DxH900). Se aprecian las poblaciones de leucocitos (azul: linfocitos, verde: monocitos, rosa: neutrófilos) y una población de células de alto volumen (flecha) que hace sospechar de la presencia de macrófagos, células mesoteliales o células atípicas. B. Imágenes del microscopio óptico (40x) tras la citocentrifugación y tinción Wright-Giemsa. Se observan células atípicas de gran tamaño con intensa basofilia, grandes vacuolas, gránulos secretores y nidos celulares, donde no es posible apreciar la separación entre células. Elaboración propia.

Se obtiene un líquido amarillento/transparente no sanguinolento y se mandan muestras para bioquímica y microbiología (estudio de tuberculosis).

Se extrae de nuevo 1 litro de líquido mejorando la saturación de oxígeno. El paciente es ingresado en la planta de neumología.

El análisis bioquímico básico resulta similar al previo definiendo un exudado con predominio mononuclear.

Además, se piden marcadores tumorales (CEA, Ca 15.3 y Ca 72.4) que resultan negativos e interferón-gamma (IFN- γ) y Adenosina Deaminasa (ADA) que descartan tuberculosis (Tabla 2).

Los resultados de la citología de AP informan de una proliferación mesotelial atípica florida. El estudio inmunocitoquímico realizado descartaba un carcinoma metastásico en pleura y confirmaba el fenotipo mesotelial de la población celular. Sin embargo, no era posible distinguir la naturaleza benigna o maligna de la lesión. Para un diagnóstico definitivo requería de un estudio histopatológico en biopsia pleural.

4. DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES

Frente al derrame pleural izquierdo, siendo un exudado de predominio mononuclear, los diagnósticos planteados fueron:

- **Origen infeccioso:**

- Paraneumónico

Uno de los primeros planteamientos asociados a la disnea y el derrame es un origen infeccioso.

Sin embargo, se descarta la posibilidad de un derrame paraneumónico al resultar los cultivos de bacterias estériles y el gram negativo.

- Tuberculoso

Durante la primera estancia en urgencias no se valoró la posibilidad de tuberculosis por no presentar antecedentes familiares ni personales.

Sin embargo, en el segundo ingreso, se decide valorar esta posibilidad. Así, se manda muestra del líquido tanto a microbiología, para cultivo y tinción de fluorescencia (B.A.A.R), como a bioquímica para determinar ADA e IFN- γ .

Los marcadores bioquímicos descartaban tuberculosis (Tabla 2), confirmado posteriormente desde microbiología al resultar el cultivo en micobacterias negativo.

- **Origen maligno:**

El hallazgo de células atípicas durante el análisis citológico en el laboratorio de bioquímica, abre la posibilidad de un derrame maligno pudiendo tratarse de:

- Derrame pleural maligno

En general, los derrames malignos comprenden entre el 15 y el 35% de los derrames pleurales, siendo una de las principales causas de exudado pleural. La mayoría se encuentran asociados a metástasis pleurales sobre todo de pulmón y mama.

El estudio inmunocitoquímico descarta que se tratara de un carcinoma metastásico de la pleura.

- Mesotelioma

Como se ha comentado, las metástasis pleurales de pulmón y mama son la primera y segunda causa de exudado pleural.

Parámetros	Unidades	Líquido pleural
Proteínas totales	(g/dL)	4
LDH	(U/L)	148
Glucosa	(mg/dL)	89
Ca 15.3	(U/mL)	46
Ca 72.4	(U/mL)	<1,5
CEA	(ng/mL)	0,49
CYFRA 21.1	(ng/mL)	77,60*
CYFRA 21.1/CEA	-	159,37
Interferón gamma	(pg/mL)	0
Adenosina Deaminasa	(U/L)	17,10

Tabla 2. Resultados del análisis más ampliado del derrame pleural, a los días de volver a ingresar. El marcador CYFRA 21.1 se amplió posteriormente según las sospechas clínicas. *Resultado elevado frente al resto de marcadores tumorales, que además genera una ratio CYFRA21.1/CEA sugestivo de mesotelioma según el estudio de Otoshi T *et al.*² Elaboración propia.

La tercera causa podría ser un mesotelioma si existiese una exposición al asbesto.

Aunque el estudio inmunocitoquímico descartaba un carcinoma metastásico de la pleura, no podía esclarecerse si las células son de naturaleza benigna (hiperplasia mesotelial florida) o maligna (mesotelioma maligno).

- Origen benigno:

Células mesoteliales benignas floridas.

Es importante tener en cuenta que, aunque se detecten células atípicas con la citocentrifugación, no es posible categorizarlas como malignas/tumorales. La tipificación corre a cargo de AP, por lo que una de las posibilidades de este hallazgo era que se trataran de células mesoteliales benignas, no pudiendo confirmarse hasta obtener el informe de AP.

5. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

Como técnicas de imagen, se le realiza inicialmente un TAC de tórax/abdomen/pelvis con contraste, donde se observa marcado engrosamiento pleural difuso con múltiples lesiones focales pleurales. El posterior PET-TAC muestra múltiples depósitos nodulares hipermetabólicos sospechosos de malignidad.

Para continuar con el diagnóstico, al paciente se le programa en unos meses una intervención quirúrgica para realizar una cirugía toracoscópica asistida por video con biopsia pleural y pleurodesis con talco. Comienza con fisioterapia respiratoria y se le cita en unas semanas.

Desde el laboratorio de bioquímica, se realiza un seguimiento del caso con los resultados de AP. Debido a que no ha sido posible determinar la naturaleza de las células mesoteliales, a la espera de los resultados histopatológicos de la biopsia, se decide hacer una búsqueda bibliográfica del uso de marcadores tumorales para el diagnóstico de mesotelioma.

Se encuentra en la literatura la relación entre los marcadores tumorales CYFRA 21.1 (fragmento 19 de la citoqueratina) y CEA (antígeno carcinoembrionario) con el mesotelioma. En concreto, unos valores en líquido pleural de CYFRA 21.1 elevados y de CEA bajos hacen sospechar de mesotelioma, con una ratio CYFRA 21.1/CEA elevado. En el estudio retrospectivo realizado por Paganuzzi M *et al.*¹ establecen puntos de corte en estos marcadores con los que apoyar el diagnóstico de mesotelioma de CYFRA 21.1 en 41,9 ng/mL y de CEA en 5 ng/mL (Sensibilidad (S): 87,5 y 3,1%; Especificidad (E): 80 y 91%, respectivamente). Posteriormente Otoshi T *et al.*² realizan otro estudio retrospectivo donde se propone el punto de corte de la ratio CYFRA 21.1/CEA para confirmar mesotelioma en 19,1 (S: 87,5, E: 74%).

Tras esta revisión, se decide ampliar CYFRA 21.1 en el último líquido pleural del paciente, cuyo resultado es 77,6 ng/mL. Este resultado se encuentra por encima de 41,9 ng/mL (punto de corte establecido por Paganuzzi M, *et al.*¹), además, obteniéndose una ratio CYFRA 21.1/CEA de 159,37, orientando la sospecha hacia mesotelioma.

Se habla con el servicio de neumología, indicándoles la ampliación, los valores obtenidos y su interpretación, como sospecha hacia mesotelioma.

Así, a la espera de los resultados confirmatorios de AP se comienza a pensar en las opciones terapéuticas a realizar y se cita al paciente en consulta en unas semanas.

6. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Tras el estudio inmunohistoquímico se diagnostica definitivamente de mesotelioma epitelioide IIIB izquierdo (irreseccable).

7. EVOLUCIÓN

Se indica tratamiento sistémico con intención paliativa. Pautando vitamina B12 y ácido fólico para comenzar tratamiento de primera línea con ciclos quimioterápicos de Cisplatino-Pemetrexed 21 días en 4-6 ciclos.

Se valora la posibilidad de cirugía (neumonectomía) tras el tratamiento oncológico.

8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

El mesotelioma es una neoplasia que se deriva de la superficie mesodérmica de la cavidad celómica embrionaria (Figura 3), por lo que puede originarse en la pleura (>90% de los casos), pericardio, peritoneo y túnica *vaginalis* del testículo. Se trata de un tumor altamente agresivo.

El 80% se relacionan con la exposición al asbesto tanto laboral como ambiental, donde hay relación causa-efecto que además es acumulativa. Se estima que la incidencia de esta patología alcanzará su pico entre 2015 y 2025 en numerosos países.

Se diferencian tres tipos histológicos, el epitelioide (más frecuente y de mejor pronóstico), el sarcomatoso y el bifásico o mixto. Hay otros subtipos mucho más infrecuentes como el dermoide, el de células pequeñas y el linfohistiocitoide. Durante las etapas iniciales no presenta sintomatología, por lo que su diagnóstico la mayor parte de las ocasiones es en estadios avanzados. Actualmente, la edad media de diagnóstico ronda los 70 años. Frecuentemente, la sintomatología acompañante es la disnea de esfuerzo y dolor pleural, en relación con el desarrollo del derrame, que se va haciendo más intenso conforme se comprimen los pulmones y el diafragma.

El principal mecanismo que lleva al derrame pleural es el aumento de la permeabilidad vascular, que además se asocia a una obstrucción del drenaje linfático.

Dado que como se ha comentado, la patología tumoral es causante del 15 al 35% de los casos de derrame pleural, desde el laboratorio de Bioquímica/Análisis Clínicos se debe realizar un cribado para la búsqueda de infiltración neoplásica.

En primer lugar, a través de la inspección macroscópica del líquido y utilizando los criterios de Light se puede clasificar el derrame como exudado o trasudado.

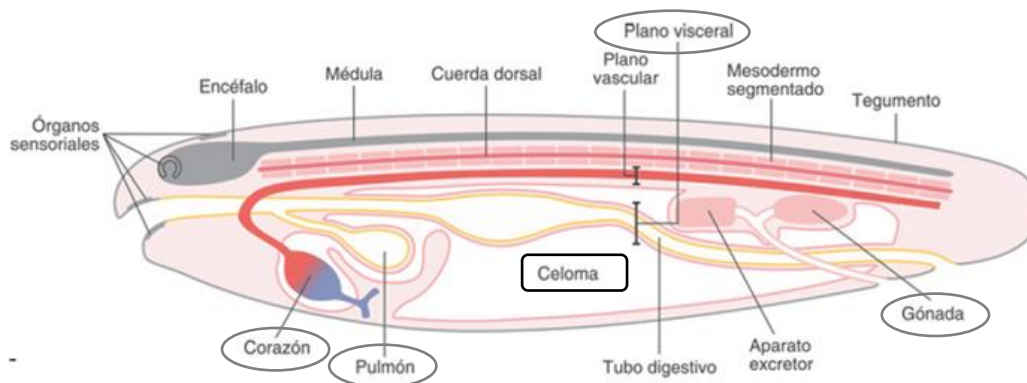


Figura 3. Esquema de la organización anatómica básica de los vertebrados cordados. El celoma ocupa las superficies que recubren el corazón, los pulmones, el peritoneo y el testículo. Por esta razón, el mesotelioma puede tener origen en cualquiera de estos lugares, siendo el más frecuente la pleura. Adaptado de: Wong Arteta J., 2020.

A continuación, mediante el recuento celular se obtiene la concentración de eritrocitos y leucocitos. Estudiando las poblaciones del escatergrama, se puede orientar si el predominio de los leucocitos es mononuclear o polimorfonuclear. Analizando el escatergrama también pueden observarse células de volumen elevado, que permanecen agrupadas en la parte alta del escatergrama y que pueden corresponder a macrófagos, células mesoteliales o células atípicas. Por ello, es necesario que, en caso de detectar su presencia, se realice una citocentrífuga junto con tinción y observación al microscopio óptico para analizar el aspecto de esas células y descartar o confirmar atipia.

En caso de derrames malignos, distintos biomarcadores en el líquido ayudan tanto a confirmar las sospechas como a orientar el diagnóstico.

8.1 Citocentrífuga:

El análisis microscópico es de gran utilidad para una correcta orientación diagnóstica de los derrames. Está descrito como el mejor método para la observación citológica, la realización previa de una citocentrífuga. Presenta como características:

- Concentra las células unas 20 veces, así, aunque el recuento celular total sea bajo, facilita su observación al microscopio.
- Permite obtener una monocapa de células (botón circular).
- Minimiza la distorsión de las células y mantiene su morfología.
- Tras la tinción (May Grünwald-Giemsa/Wright-Giemsa) y observación al microscopio se pueden distinguir los detalles morfológicos para su clasificación.
- Utiliza una pequeña cantidad de muestra (100 µL).

Se trata de un método rápido y sencillo, en el cual se coloca el líquido en una cubeta, y perpendicular a la misma un portaobjetos. Se centrifuga a unas 500-1000 rpm durante 5 minutos para obtener el botón de células. Este posteriormente se tiñe para observarlo al microscopio.

Una vez al microscopio es importante saber diferenciar las células mesoteliales de las células atípicas (Tabla 3), ya que comparten características, siendo fundamental su correcta identificación.

Las células mesoteliales son células de revestimiento de las cavidades serosas. Su presencia es habitual, ya que suelen descamarse sin asociarse a ninguna patología. Pueden presentar una morfología variada, en cuanto que diversos procesos generan cambios citológicos reactivos en estas células. En nuestro paciente, aunque el fenotipo era mesotelial, las células halladas en la citocentrífuga presentaban aspecto atípico por presentar intensa basofilia, grandes vacuolas desplazando el núcleo y formar sincitios donde no se pueden discernir los límites entre células (Figura 2b).

8.2 Biomarcadores:

Por otro lado, hay diversos biomarcadores en líquido pleural que pueden ayudar al diagnóstico, sin embargo, su utilidad es cuestionada sobre todo en relación al punto de corte a emplear.

Son útiles principalmente en casos de citologías no aclarativas (debido a su baja sensibilidad). De este modo, se puede apoyar al diagnóstico, evitando la realización de un método más invasivo como sería la biopsia, en casos de pacientes con edad avanzada o mal estado clínico que peligrarían en la intervención. Algunos de los marcadores empleados son:

- Marcadores tumorales (Ca 19.9, Ca 15.3, Ca 72.4, CEA):

Una elevación en el líquido pleural junto con un cociente líquido/suero $>1,2$ tienen un valor predictivo positivo mayor del 99% en el diagnóstico de derrame pleural maligno³, siempre que sean descartadas previamente la insuficiencia renal, hepatopatías y enfermedades dermatológicas.

Específicamente en el caso del mesotelioma, son útiles los marcadores CYFRA 21.1 y CEA, que como se ha comentado anteriormente, en la literatura hay descritos puntos de corte para confirmar mesotelioma tanto para los marcadores

	CÉLULAS MESOTELIALES	CÉLULAS ATÍPICAS
Tamaño	Uniforme, de mediano (10-30 μm) hasta ser más grandes cuando se vuelven reactivas.	Polimorfo generalmente muy grandes.
Relación núcleo/citoplasma	Moderada / baja.	Alta.
Núcleo	Único o doble con contorno redondeado y cromatina poco condensada.	Dos o más, variados y abigarrados. Cromatina laxa e inmadura.
Citoplasma	Basófilo desde tenue a intenso conforme se vuelven reactivas.	Intensa basofilia.
Presencia de mitosis	Puede haber en el caso de células reactivas.	Presencia de mitosis anormales y múltiples.
Agrupaciones celulares	También presentan tendencia a agruparse, pero siendo claros los límites entre células y observándolas en el mismo plano de foco.	Tendencia a formar nidos celulares o sincitios, donde no se puede distinguir el límite entre las células y aparecen en distintos planos de foco.
Fagocitosis	Puede hallarse fagocitosis de elementos en el caso de células reactivas.	Es frecuente la fagocitosis de otras células neoplásicas (canibalismo).
Otros		Presencia de vacuola de gran tamaño (célula en anillo de sello). Vacuolización polar del citoplasma en caso de células secretoras.

Tabla 3. Comparación de las características entre células mesoteliales y células atípicas que permiten su diferenciación al microscopio. Adaptado de Merino A., 2011⁴.

(CYFRA 21.1 >41,9 ng/mL y CEA >5 ng/mL) como para el valor de la ratio CYFRA 21.1/CEA (>19,1).

- Péptido relacionado con la mesotelina soluble (SMRP) o también denominado Mesotelina:

Se han realizado diversos estudios que demuestran su relación con el tamaño y progresión tumoral en el mesotelioma epitelioide (aunque el sarcomatoso suele resultar negativo). Sus valores se ven influenciados por la función renal, y su principal uso radica en que valores bajos permiten descartar mesotelioma, mientras que valores superiores refuerzan la realización de técnicas invasivas para su confirmación.

Otoshi T *et al.*² en su estudio retrospectivo proponen un punto de corte en 20 nmol/L para confirmar mesotelioma (S: 56,3%, E: 86,5%). Además, utilizando conjuntamente el SMRP con la ratio CYFRA 21.1/CEA, mejora la sensibilidad (93,8%) aunque disminuye algo la especificidad (64,9%) en ambos parámetros.

- Ácido hialurónico:

Se ha demostrado mediante curvas ROC que un valor de ácido hialurónico superior a 100.000 ng/mL es sugestivo de mesotelioma (S: 44 y E: 96,5%).

8.3 Citología e Histología en AP:

En cuanto al diagnóstico y categorización de los derrames malignos, la citología realizada es la técnica de elección. Sin embargo, su negatividad no descarta malignidad ya que presenta una sensibilidad del 60%. Además, esta sensibilidad se ve reducida en el caso de los mesoteliomas.

Debido a la baja sensibilidad de la citología, frecuentemente son necesarios procedimientos mucho más invasivos como la biopsia pleural.

8.4 Tratamiento:

Como su diagnóstico generalmente es tardío, la efectividad de los tratamientos es escasa. La radioterapia es utilizada como uso paliativo para control del dolor. En cuanto a la quimioterapia, se aconseja no demorar su administración debiendo aplicarse antes de que el paciente presente deterioro funcional.

La cirugía es raramente curativa, orientada a controlar localmente la enfermedad, eliminar el derrame y liberar el pulmón para paliar el dolor y mejorar la ventilación.

BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. Paganuzzi M, Onetto M, Marroni P, Filiberti R, Tassara E, Parodi S *et al.* Diagnostic Value of CYFRA 21–1 Tumor Marker and CEA in Pleural Effusion Due to Mesothelioma. CHEST 2001; 119:1138–42.

2. Otsu T, Kataoka Y, Ikegaki S, Saito E, Matsumoto H, Kaku S et al. Pleural effusion biomarkers and computed tomography findings in diagnosing malignant pleural mesothelioma: A retrospective study in a single center. PLoS ONE. 2017;12(10) e0185850.
3. Trapé J, Sant F, Franquesa J, Montesinos J, Arnau A, Sala M, Bernadich O et al. Evaluation of two strategies for the interpretation of tumour markers in pleural effusions. Respir Res 2017;18(1):1-8.
4. Merino A. Citología normal de los líquidos biológicos (LCR, líquidos serosos). En: Citología de líquidos

biológicos: experiencia del Grupo Catalán de Citología Hematológica. Madrid: Acción Médica; 2011. p. 7-11.

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Merino A. Citología de líquidos biológicos (serosos y cefalorraquídeo) y su utilidad diagnóstica. En: Manual de Citología de sangre periférica y Líquidos Biológicos. 2ed. Madrid: Editorial médica Panamericana. 2019. p:213-52.
- Wong Arteta J. Paciente que acude a urgencias con disnea y derrame pleural atípico. Ed. Cont. Lab. Clin 49: 65 – 79.

30-LEUCEMIA AGUDA MIELOIDE CON BLASTOS “CON HUELLA DACTILAR”

Autores: Alberto Blanco Sánchez*, Guillermo Ramos Moreno*, Gonzalo Carreño Gómez-Tarragona.

**Ambos autores han participado por igual*

Servicio de Hematología y Hemoterapia, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid.

Palabras clave: Leucemia mieloide aguda, Mutación *NPM1*, *FLT3*.

1. INTRODUCCIÓN

La citología constituye una de las primeras pruebas que comenzó a utilizarse en el laboratorio de hematología. Se trata de una técnica de escaso coste, disponible en muchos centros y que asegura resultados rápidos. Sin embargo, en los últimos años han aparecido nuevos métodos que han revolucionado el diagnóstico de las hemopatías malignas, desde la citometría de flujo hasta las técnicas de biología molecular. Estas técnicas no solo han proporcionado una mayor fiabilidad diagnóstica, sino que han permitido el descubrimiento de nuevas entidades malignas, así como su reclasificación.

A pesar de esto, la citología continúa vigente como primera etapa dentro del estudio de las muestras extraídas de médula ósea. Además, ciertos hallazgos morfológicos se relacionan con determinadas alteraciones citogenéticas y moleculares, lo que permite sospecharlas antes de la obtención de unos resultados que pueden demorarse durante días o semanas. En este caso clínico se expone uno de los ejemplos en los que la morfología celular aporta detalles sobre los mecanismos moleculares subyacentes a la carcinogénesis.

2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

2.1 Motivo de consulta:

Fiebre en varón de 63 años de edad.

2.2 Antecedentes personales:

Entre los antecedentes personales destacan:

- Diabetes mellitus tipo 2 en tratamiento con metformina.
- Panuveítis bilateral en seguimiento por oftalmología y reumatología. En tratamiento con infliximab y metotrexato.

2.3 Enfermedad actual:

Acude a urgencias por cuadro de 4 días de evolución consistente en fiebre y dolor abdominal, además de hiporexia y astenia de una semana de evolución. Refiere náuseas y algún vómito asociado y en el día previo una deposición de coloración oscura. Refiere además molestias gingivales ocasionales en los últimos días. No clínica respiratoria ni miccional. No antecedentes ocupacionales ni familiares de interés.

2.4 Exploración física:

Tensión arterial: 110/78 mmHg, frecuencia cardiaca: 101 latidos por minuto, saturación de oxígeno: 98%, Temperatura: 36,1°C.

Hemodinámicamente estable y afebril, eupneico en reposo, buen estado general, normoperfundido, normohidratado y normocoloreado.

- Cabeza y cuello: hipertrofia gingival en arcadas superior e inferior. Adenopatía submandibular izquierda de consistencia pétrea. Hipertrofia amigdalina izquierda alcanzando línea media.
- Tórax: auscultación cardiaca rítmica sin soplos. Auscultación pulmonar con murmullo vesicular conservado sin ruidos sobreañadidos.
- Abdomen: ruidos hidroaéreos conservados, blando y depresible, no doloroso a la palpación, sin signos de irritación peritoneal.
- Miembros: no edemas, no signos de trombosis venosa profunda.
- Piel y faneras: sin lesiones visibles.
- Neurológica: consciente y orientado, alerta, sin signos de focalidad neurológica.

3. INFORME DE LABORATORIO

En la analítica sanguínea destaca una bicitopenia con leucocitosis. Anemia normocítica normocrómica (hemoglobina 8,1 g/dL, volumen corpuscular medio 83,9 fL, hemoglobina corpuscular media 26,9 pg), plaquetopenia (70.000/μL), leucocitosis con linfocitosis (leucocitos 151.000/μL, linfocitos 141.400/μL, neutrófilos 8.300/μL). Perfil hepático y renal normales (creatinina 0,79 mg/dL). Elevación de reactantes de fase aguda (proteína C reactiva 14,27 mg/dL, fibrinógeno 543 mg/dL) y de lactato deshidrogenasa (786 U/L). No elevación de ácido úrico (5,4 mg/dL) ni alteraciones iónicas (sodio 138mEq/L, potasio 3,87 mEq/L, calcio 8,6 mg/dL y fósforo 3,4 mg/dL).

4. DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES

- Leucemia aguda linfocítica (LLA)
- Leucemia aguda mieloide (LMA)

5. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

Se realiza un frotis de sangre periférica, en el que se observan un 92% de blastos de aspecto mieloide. Se aprecia la presencia de dos poblaciones blásticas, una de menor tamaño con granulación e imagen de “huella dactilar” y otra de mayor tamaño y contorno nuclear irregular de aspecto monocitoide (Figura 1A yB).

En el aspirado de médula ósea se aprecia una infiltración por 88% de blastos, compatible con leucemia mieloide aguda (Figura 1C y D). Por las características morfológicas sugiere descartar mutación en los genes *Nucleophosmin 1 (NPM1)* y *FMS-like tyrosine kinase-3 (FLT3)*.

En el estudio de biología molecular, se detectan mutaciones en el gen *NPM1* localizadas en el exón 12. No se detecta reordenamiento *PML/RARα*, reordenamiento *RUNX1-RUNX1T1*, ni duplicaciones en tándem del gen *FLT3*.

Mediante análisis citogenético se realiza tanto el cariotipo, como una hibridación fluorescente *in situ* (FISH).

- Cariotipo: 46, XY, del(9)(p13)[6]/46,XY[21]. Se observa una deleción intersticial en el brazo corto del cromosoma 9, esta deleción no incluye la región 9p21 del gen supresor de tumores *p16/CDKN2A (Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2A)*
- FISH: Se descartan alteraciones del gen *Lysine Methyltransferase 2A (KMT2A (MLL))*, inversión/translocación 3q, deleción 5q, deleción 7q, del(9p).

El estudio del inmunofenotipo mediante citometría de flujo muestra una médula ósea hiper celular con infiltración masiva por un 85% de blastos mieloides, con fenotipo CD34-, HLA-DR-, CD117+, CD13+, CD33++, que se suele asociar a

mutación en *NPM1*, compatible con leucemia mieloide aguda.

6. DIAGNÓSTICO

Neoplasia mieloide relacionada con la terapia, tipo leucemia mieloide aguda.

7. EVOLUCIÓN

El paciente ha recibido hasta la fecha un ciclo de inducción según el esquema 3+7 y una primera consolidación con citarabina a altas dosis, alcanzando respuesta citológica completa con enfermedad mínima residual negativa. Se encuentra pendiente de recibir una segunda consolidación y en proceso de estudio para valorar realización de trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos.

8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

Las leucemias agudas son neoplasias en las que la célula clonal se corresponde con células madre hematopoyéticas en estados muy inmaduros, conocidas como blastos¹. En los adultos, el 80% de las mismas proceden de blastos de estirpe mieloide (mieloblastos), correspondiendo el 20% restante a leucemias agudas linfoideas, por otro lado, es el tipo de leucemia aguda más frecuente en la edad pediátrica².

El diagnóstico se establece con la observación en un frotis de un 20% o más de blastos con respecto a la celularidad total en sangre periférica y/o médula ósea³. El diagnóstico es por tanto citológico, si bien se complementa con una serie de pruebas adicionales, entre ellas el estudio del inmunofenotipo de dichos blastos mediante citometría de flujo, el estudio citogenético y el de biología molecular⁴.

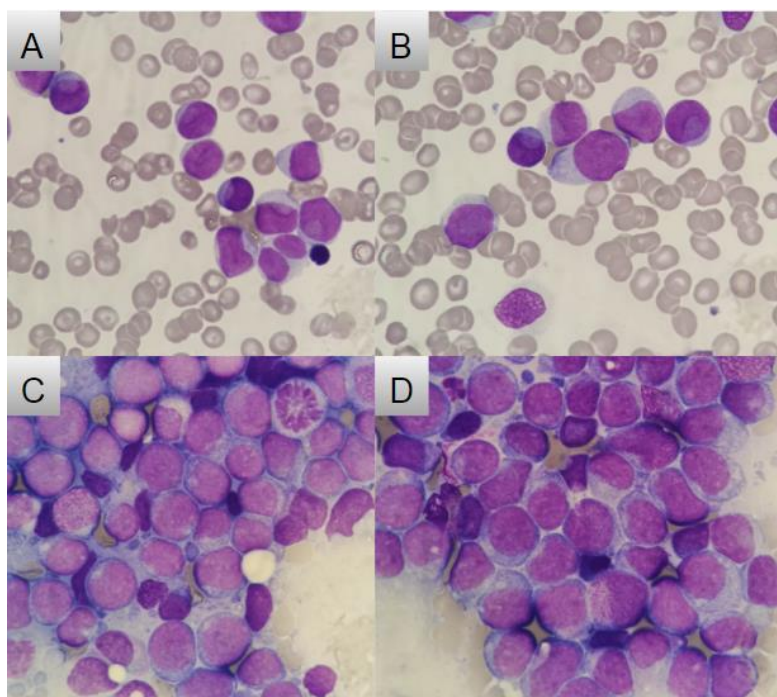


Figura 1. Microfotografías de extensiones de sangre periférica y aspirado de médula ósea. **A y B** imágenes a 100 aumentos de frotis de sangre periférica con presencia de blastos con signo de la “huella dactilar”. **C y D** imágenes a 100 aumentos de frotis de aspirado de médula ósea: infiltración masiva por blastos de aspecto monocitoide. Elaboración propia

Estos últimos dos estudios mencionados son de vital importancia para la detección de alteraciones genéticas recurrentes, las cuales se tratan de un pequeño grupo de anomalías que están presentes en un alto porcentaje de leucemias agudas mieloides. Esto tiene implicaciones pronósticas, terapéuticas (puede implicar la decisión de realizar o no un trasplante de progenitores hematopoyéticos como terapia de consolidación), así como diagnósticas, dado que las leucemias agudas mieloides con presencia de las translocaciones t(8;21), t(16;16), la inversión inv(16) o el reordenamiento *PML-RAR α* no requieren de un 20% de blastos en médula ósea o sangre periférica para su diagnóstico⁴.

En el paciente expuesto, destaca la presencia en el estudio citológico de una población de blastos con una morfología característica con presencia de "huella dactilar" o "núcleo en copa"⁵. Esta morfología, consecuencia de una invaginación citoplasmática rica en mitocondrias que desplaza el contenido nuclear, se ha relacionado con la presencia de mutaciones en los genes *NPM1* y *FLT3* y cariotipo normal⁶. A continuación, se va a desarrollar brevemente las características de las alteraciones genéticas asociadas a esta morfología.

8.1 *NPM1*

Las mutaciones en el gen *NPM1* son las más frecuentes en la LMA en adultos (33% de los casos diagnosticados). Éste codifica para la proteína nucleofosmina (*NPM1*), implicada en múltiples funciones intranucleares, desde el control del ciclo celular, duplicación de centrómeros hasta el transporte de productos nucleares al citoplasma. Mientras que *NPM1 wild-type* se encuentra principalmente en el núcleo, sus formas mutadas son exportadas al citoplasma por la exportina 1 (*XPO1*), facilitando además el transporte simultáneo de otras proteínas nucleares reguladoras al citoplasma⁷.

La mutación de *NPM1*, acompañada de un cariotipo normal y sin mutación concomitante en forma duplicaciones internas en tándem de *FLT3* (*FLT3*-ITD: *internal tandem duplication*) o con una ratio *FLT3*-ITD baja, confiere un pronóstico citogenético favorable según la clasificación *European Leukemia Net 2017*⁸, la más empleada en la práctica clínica.

Además, se trata de una mutación muy estable durante la historia natural de la enfermedad, de forma que se puede utilizar como marcador molecular para la detección de enfermedad mínima residual tras el tratamiento⁹.

8.2 *FLT3*

Por otro lado, el gen *FLT3* es el segundo más frecuentemente mutado en la LMA en adultos tras *NPM1*. Se encuentra situado en el cromosoma 13 y codifica para un receptor tirosin-kinasa transmembrana (*FLT3*). Las mutaciones de este gen pueden darse en forma de mutaciones puntuales (*FLT3*-TKD: *tyrosine kinase domain*) o bien por duplicaciones internas en tándem (*FLT3*-ITD) siendo estas últimas las más frecuentes. La presencia de la mutación *FLT3*-ITD en general empeora el pronóstico, si bien los pacientes con mutaciones *FLT3*-ITD con ratio alélico bajo (proporción de alelos mutados/no mutados <0,5) asociadas

a mutación en *NPM1* tienen un pronóstico similar al de las formas con *NPM1* con *FLT3* nativo (es decir, pronóstico favorable)¹⁰.

Por tanto, de acuerdo a la última clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de las leucemias agudas mieloides, el paciente expuesto pertenecería al grupo relacionado con anomalías genéticas recurrentes (mutación de *NPM1*) si bien ha de tenerse en cuenta un factor adicional, y es que recibió tratamiento con metotrexato, considerado como fármaco quimioterápico del grupo de los antimetabolitos. De acuerdo a la última clasificación, prevalece este elemento por encima de la alteración molecular, por lo que el paciente fue diagnosticado finalmente de neoplasia mieloide relacionada con la terapia⁴.

9. CONCLUSIÓN

Pese a que la actual clasificación de la OMS deja atrás la antigua clasificación Franco-Americana-Británica (FAB) basada en parámetros morfológicos y citoquímicos, el diagnóstico citológico sigue siendo fundamental en la determinación del porcentaje de blastos circulantes, así como la objetivación de rasgos displásicos.

En este caso, podemos además observar cómo la citología es capaz de orientar la presencia de determinadas mutaciones genéticas relevantes para el pronóstico de la enfermedad. El ejemplo clásico de ello es la observación de promielocitos atípicos que hacen sospechar de la presencia de una LMA promielocítica, y justifican el inicio de tratamiento con ATRA aun no disponiendo de estudios genéticos y moleculares que demuestren la existencia de la translocación t(8;21) y reordenamiento del gen *PML-RAR α* . Esta actitud se basa en la urgencia que supone instaurar el tratamiento en una enfermedad que habitualmente compromete la vida por las alteraciones que induce en la coagulación, y por la fuerte asociación de características morfológicas y la alteración molecular patogénica.

La sospecha de mutaciones en *FLT3* y *NPM1* no requieren de una actuación urgente como en el caso anterior, por lo que habitualmente se espera a disponer del estudio de biología molecular para la catalogación de la leucemia, si bien los hallazgos morfológicos pueden adelantar información pronóstica para el paciente.

BIBLIOGRAFIA ESPECÍFICA

1. Hoffman R, Benz EJ, Silberstein LE *et al*. Hematology: Basic Principles and Practice. 6ªed. Filadelfia: Elsevier; 2013.
2. Sanz MA, Carreras E. Manual práctico de Hematología clínica. 6ª ed. Barcelona: Antares; 2019.
3. Woessner S, Florensa L. La citología óptica en el diagnóstico hematológico. 5ª ed. Barcelona: Fundación española de Hematología y Hemoterapia; 2006.
4. Swerdlow, S. H. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2017.

5. Vidholia A, Menon MP. "Cup-like" blasts in acute myeloid leukemia with FLT3 and NPM1 mutations. *Blood*. 2015; 125(5):889.
6. Jost E, Herwartz R, Hoß M, Vankann L, Fuchs R. Cup-like blasts in acute myeloid leukemia. *Am. J. Hematol*. 2015; 90:847-848.
7. Falini B, Brunetti L, Sportoletti P, Martelli MP. NPM1-mutated acute myeloid leukemia: From bench to bedside. *Blood*. 2020; 136(15):1707-1721.
8. Estey E, Grimwade D, Amadori S, *et al*. Review Article Diagnosis and management of AML in adults. *ELN* recommendations from an international expert panel. *Blood*. 2017; 129(4):424-447.
9. Forghieri F, Comoli P, Marasca R, Potenza L, Luppi M. Minimal/Measurable Residual Disease Monitoring in NPM1-Mutated Acute Myeloid Leukemia: A Clinical Viewpoint and Perspectives. *Int J Mol Sci*. 2018; 19(11):3492.
10. DiNardo CD, Cortes JE. Mutations in AML: prognostic and therapeutic implications. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2016; 2016(1):348-355.

31-DEBUT INUSUAL DE LEUCEMIA AGUDA

Autores: Eva Barbón Alonso¹, Beatriz Villanueva Iribarren¹, Daniel Párraga García².

¹Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario de Navarra. Pamplona.

²Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Palabras clave: Leucemia aguda, Ictus, Leucostasis.

1. INTRODUCCIÓN

Se denomina código ictus al procedimiento de actuación hospitalaria que permite asegurar la rapidez diagnóstica, actuación y coordinación entre las diferentes especialidades médicas, ante una sospecha de ictus.

Se trata de una herramienta que reduce el tiempo de espera hasta el diagnóstico y, con ello, los riesgos de que se produzcan consecuencias graves y/o irreversibles.

Este protocolo coordina la actuación de los servicios de urgencias, neurología, análisis clínicos y enfermería en caso de llegada de un paciente con síntomas compatibles con ictus (pérdida brusca de la fuerza, pérdida o alteración del habla, de la sensibilidad y/o de la visión).

Es importante que el médico de urgencias establezca al paciente inmediatamente después de su llegada al hospital y proceda a la anamnesis y exploración física de manera exhaustiva con el objetivo de encontrar algún tipo de alteración que oriente el diagnóstico hacia un posible ictus.

En el momento de la sospecha, el médico de urgencias solicitará la realización de un TAC (tomografía axial computerizada) que será revisado por el servicio de neurología tratando de localizar una posible oclusión en el flujo sanguíneo y realizando las pruebas complementarias pertinentes.

El servicio de enfermería será el encargado de monitorizar las constantes del paciente de manera continua y realizar las extracciones de sangre para enviar al laboratorio.

El laboratorio, por su parte, debe dar prioridad a la validación de los resultados de pacientes incluidos en este protocolo.

Se presenta el caso de una paciente que acude al servicio de urgencias con sintomatología compatible con ictus, por lo que se activa el protocolo mencionado (Figura 1) a la espera de resultados de las pruebas solicitadas.

2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

2.1 Motivo de consulta:

Mujer de 89 años institucionalizada, con cuadro de unas horas de evolución de desorientación, pérdida de fuerza y dificultad para hablar.

El personal de enfermería del centro sospecha de una posible infección urinaria, ya que en personas de edad avanzada se manifiesta frecuentemente con alteraciones del comportamiento.

Se realiza un Combur Test®, que consiste en poner en contacto la orina del paciente con una tira de plástico a la que se encuentran adheridas una serie de almohadillas con reactivos diferentes que permiten conocer de forma rápida diferentes características de la orina: densidad relativa, pH, proteínas, glucosa, hemoglobina, bilirrubina, urobilinógeno, nitritos y esterasa leucocitaria.

El resultado del Combur Test® de la paciente descarta la sospecha inicial de infección urinaria, por lo que se decide el traslado inmediato al servicio de urgencias.

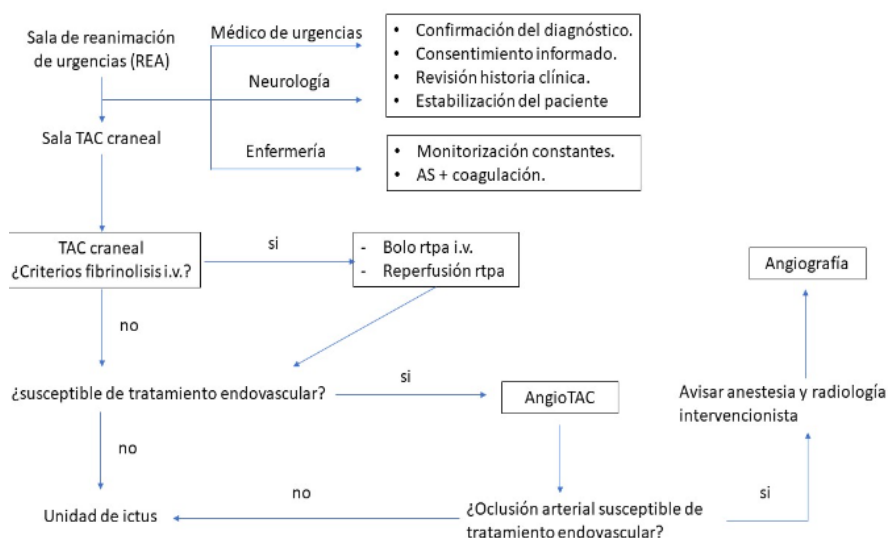


Figura 1. Esquema de código ictus utilizado en el Hospital Universitario de Navarra.

PARÁMETROS (Valores de referencia)	RESULTADOS EN URGENCIAS
Hemoglobina (12-16 g/dL)	10,3
Leucocitos (4-11*10 ⁹ /L)	133
Linfocitos (1-4*10 ⁹ /L)	116
Plaquetas (150-400*10 ⁹ /L)	41

Tabla 1. Parámetros alterados en el hemograma. Elaboración propia.

A su llegada al hospital de referencia presenta asimetría facial, disfagia y cefalea, junto con incremento de su déficit motor.

2.2 Antecedentes personales y familiares:

No presenta antecedentes de interés.

2.3 Exploración física:

Durante la exploración neurológica se detecta parálisis facial central izquierda, lenguaje disártrico y plejía de extremidades izquierdas con anestesia hemicorporal asociada.

Los resultados de esta exploración son compatibles con el diagnóstico de ictus, por lo que se decide activar el protocolo mencionado anteriormente y coordinar a los servicios implicados.

3. INFORME DEL LABORATORIO

En la analítica de sangre destacan los resultados del hemograma (Tabla 1) que alertan al personal de guardia: presencia de una intensa leucocitosis junto con alarmas del analizador que indican presencia de células no identificadas.

En el analizador Alinity hq® estas células no identificadas generalmente se corresponden con células blásticas o linfocitos de aspecto activado.

La importante leucocitosis a expensas de linfocitosis invita a revisar el escatergrama (Figura 2) y a realizar una extensión

de sangre periférica (Figura 3) con el objetivo de identificar las células que han generado alarmas en el analizador.

Ante las alteraciones observadas en el escatergrama y la morfología apreciada en el frotis sanguíneo, sugestiva de un elevado porcentaje de blastos (95%), se informa al servicio de hematología que, tras revisar la extensión de sangre periférica, procede al ingreso inmediato de la paciente en su planta.

Durante el ingreso se realizaron analíticas de control obteniendo los resultados recogidos en la tabla 2.

4. DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES

- Episodio tromboembólico: Se trata de la sospecha inicial, ya que la sintomatología de la paciente es sugestiva de tromboembolismo a nivel cerebral.
- Leucemia aguda: La sospecha se inicia a nivel del laboratorio, en la revisión del hemograma y se confirma con la visualización de la extensión de sangre periférica.

5. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

Se comenta con la familia la posibilidad de realizar un aspirado medular, con el objetivo de tipificar leucemia y valorar los posibles tratamientos a utilizar.

La relación beneficio/riesgo de esta prueba no parece satisfactoria ya que someter a la paciente a una prueba

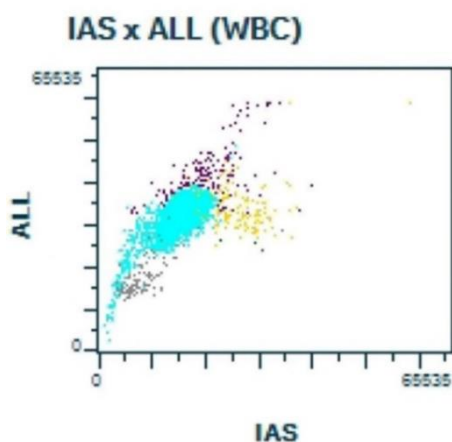


Figura 2. Escatergrama obtenido mediante el analizador hematológico Alinity hq®. Se puede sospechar de la presencia de blastos debido a la superposición de poblaciones de linfocitos y monocitos. El analizador genera alarma de blastos y linfocitos atípicos. Elaboración propia.

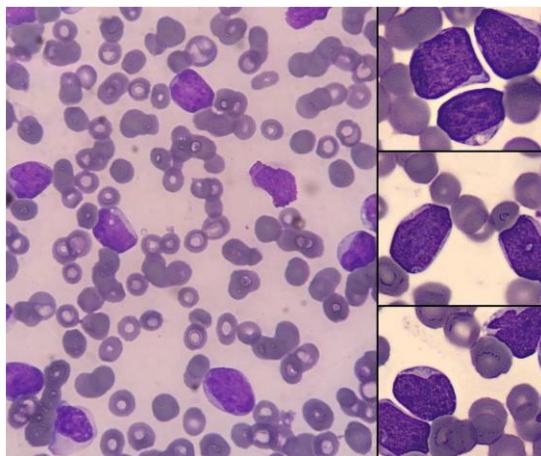


Figura 3. Morfología de sangre periférica con tinción May-Grünwald Giemsa capturada por *Cellavision*®. Se aprecia la presencia de un 95% de blastos con elevada relación núcleo/citoplasma. En algunas células se pueden observar nucléolos. Elaboración propia.

invasiva podría producir daños importantes debido a su avanzada edad y a la gravedad de su estado.

La posibilidad de prescribir un tratamiento quimioterápico con resultados satisfactorios parece reducida debido a la situación en la que se encuentra la paciente. Un tratamiento tan agresivo, lejos de mejorar su situación actual, podría suponer graves riesgos para su salud.

El equipo médico informa de la situación a la familia de la paciente y propone la administración de tratamiento paliativo ante las escasas posibilidades de recuperación.

Finalmente, la familia decide rechazar la prueba y el tratamiento quimioterápico y comenzar a aplicar medidas paliativas.

6. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Ictus isquémico secundario a leucemia aguda.

7. EVOLUCIÓN

La paciente fallece al tercer día de ingreso.

8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

8.1 Leucemia aguda

Las leucemias agudas suponen el 10% del total de los cánceres, con una incidencia de 2-3 casos por cada 100.000 habitantes/año.

Esta enfermedad se produce como consecuencia de mutaciones somáticas a nivel de las células madre hematopoyéticas, generando una proliferación descontrolada de células inmaduras (blastos) que escapan del control de los mecanismos regulatorios y apoptóticos. Existe un desequilibrio en los procesos de proliferación y diferenciación celular, ocasionando la pérdida del proceso madurativo de la célula precursora, que se transforma en una célula leucémica.

En la mayor parte de los casos aparece de forma aguda en personas previamente sanas y asociado a un grave deterioro del estado general.

Las células inmaduras se acumulan en el torrente sanguíneo y médula ósea provocando insuficiencia medular e infiltración en diversos órganos (bazo, hígado), así como citopenias de las tres series hematopoyéticas en sangre periférica, desencadenando anemia, neutropenia y trombocitopenia. El recuento leucocitario es variable, generalmente la detección en el hemograma de una intensa leucocitosis se relaciona con peor pronóstico.

Entre los agentes que pueden dar lugar a esta enfermedad se incluyen factores endógenos, genéticos y ambientales.

La edad avanzada predispone al desarrollo de leucemias. El envejecimiento conlleva una mayor probabilidad de sufrir mutaciones en células somáticas, bien por azar o por exposición a agentes mutacionales a lo largo de la vida.

PARÁMETROS (Valores de referencia)	Día 1	Día 2
Hemoglobina (12-16 g/dL)	10,3	9,4
Leucocitos (4-11*10 ⁹ /L)	133	222
Blastos (0%)	95	94
Plaquetas (150-400*10 ⁹ /L)	41	29

Tabla 2. Evolución de las analíticas de control durante el ingreso. Se puede observar como los parámetros que se encontraban fuera de rango, lejos de mejorar, se alteran más con el paso de los días. Elaboración propia.

Agentes infecciosos, especialmente virus (Virus de Epstein-Barr, Citomegalovirus, Virus de la Inmunodeficiencia Humana o Virus de Hepatitis C), fármacos antineoplásicos (inhibidores topoisomerasa II o agentes alquilantes) y agentes químicos como el benceno o físicos como las radiaciones pueden dar lugar a esta enfermedad.

Las leucemias agudas presentan una distribución bimodal a lo largo de la vida, destacando dos picos de edades. A temprana edad, entorno a los 3-5 años predominan las leucemias de estirpe linfóide mientras que, las leucemias de estirpe mieloide son más frecuentes en edades superiores a los 65 años.

Pueden ser de dos tipos:

- Primarias o “*de novo*”: no hay antecedentes que provoquen su aparición.
- Secundarias: consecuencia de enfermedades previas o tratamientos quimioterápicos, antineoplásicos o radioterápicos.

Para su diagnóstico se utilizan distintos tipos de técnicas¹:

- Estudio morfológico de las células en sangre periférica a través de un frotis sanguíneo y posterior tinción con May-Grunwald-Giemsa o con tinciones citoquímicas según la sospecha. La observación de células inmaduras en el frotis es sugestiva de leucemia.
- Biopsia de médula ósea: permite conocer la celularidad e histología del tejido. El microambiente de la médula.
- Estudio inmunofenotípico. La expresión antigénica de las células constituye su inmunofenotipo. Permite la identificación de la línea celular y su grado de maduración. La citometría de flujo permite el diagnóstico y el seguimiento de la eficacia terapéutica.
- Estudio citogenético de sangre periférica y/o medular: tienen su papel en la identificación de algunos subtipos de leucemias agudas. Además, en algunas de ellas, presenta un valor pronóstico independiente.

La clasificación MIC (morfología, inmunofenotipo y citogenética) se basa en el estudio morfológico, su inmunofenotipado y la citogenética de la célula blástica.

La clasificación más utilizada ha sido la clasificación FAB (*French-American-British*). Seguidamente la Organización Mundial de la Salud propuso su clasificación siendo la última la del 2016.

Las leucemias agudas se dividen en dos grupos, teniendo en cuenta el origen de la célula precursora implicada.

- Leucemia aguda mieloide (LMA): la célula blástica es de origen mieloide.
- Leucemia aguda linfóide (LLA): el origen de la célula blástica es linfóide.

A pesar de esto, hay que tener en cuenta que existen leucemias agudas que expresan marcadores de los dos grupos (linfóides y mieloides), denominándose leucemias agudas indiferenciadas.

8.2 Complicaciones cerebrovasculares

Las enfermedades hematológicas pueden causar alteraciones a nivel cerebrovascular entre las que destacan alteraciones isquémicas, hemorragia subaracnoidea o trombosis. Se trata de complicaciones que aparecen con una baja frecuencia, sin embargo, es importante permanecer alerta ante su posible aparición, ya que pueden tener consecuencias graves para la salud del paciente.

Una de las enfermedades hematológicas con mayor frecuencia de accidentes cerebrovasculares asociados es la leucemia aguda.

Generalmente aparecen un tiempo después del diagnóstico de leucemia, aunque, ocasionalmente, pueden tratarse del primer síntoma, produciendo confusión en el diagnóstico inicial. En estos casos, la clave para diferenciar un accidente cerebrovascular de una leucemia aguda reside en los resultados del hemograma y posterior visualización del frotis sanguíneo.

En las leucemias agudas se observará leucocitosis acompañada de anemia, trombopenia y presencia de células inmaduras en el frotis.

Los accidentes cerebrovasculares secundarios a leucemia son consecuencia de hipercoagulabilidad, coagulación intravascular diseminada o leucostasis.

La manifestación más frecuente es la hemorragia intracraneal, favorecida por el reducido recuento plaquetario.

La leucostasis se considera un hallazgo de mal pronóstico debido a la elevada tasa de mortalidad asociada².

8.3 Leucostasis

La leucostasis se define como una complicación secundaria a hiperleucocitosis en la que se acumulan blastos en vasos sanguíneos de pequeño calibre, principalmente a nivel de sistema nervioso central y pulmonar. Se relaciona con una mortalidad superior al 20%, por lo que se considera un signo de mal pronóstico en el contexto de una leucemia aguda.

Se asocia con hiperleucocitosis superior a 50.000 leucocitos/mL. La significación clínica de esta entidad es importante cuando se superan los 200.000 leucocitos/mL en caso de leucemias mieloides y 300.000/mL en caso de leucemias linfoides.

La incidencia de leucostasis es más elevada en caso de leucemia mieloide aguda en comparación con leucemia linfóide aguda. Este hecho se debe al mayor tamaño de los blastos mieloides con respecto a los linfoides y a su mayor predisposición a la adhesión al endotelio vascular debido a la sobreexpresión de moléculas como la ICAM-1 (molécula de adhesión intercelular de tipo 1) y la P-selectina.

El elevado recuento de leucocitos produce un aumento de la viscosidad sanguínea que, acompañada de la reducida capacidad de deformación de los blastos, origina la obstrucción e invasión de los vasos de la microcirculación por microagregados de células leucémicas³.

Las principales complicaciones de la leucostasis son:

- Sistema nervioso central (SNC): puede manifestarse como diplopía, convulsiones, estupor y coma. Sus

principales complicaciones son la hemorragia cerebral y trombosis a nivel de los vasos cerebrales.

- Sistema pulmonar: Cursa con hipoxemia, disnea y taquipnea pudiendo derivar en una insuficiencia respiratoria grave y hemorragia pulmonar.
- Síndrome de lisis tumoral: secundario a la destrucción celular desencadenada por la leucocitosis.

La leucostasis se considera una emergencia hematológica, por lo que el tratamiento debe ser instaurado lo antes posible. Consiste en la administración de uricolíticos para evitar complicaciones secundarias al síndrome de lisis tumoral, acompañados de hidroxurea que reduce el recuento leucocitario.

Se realiza leucocitorreducción mediante leucoféresis o quimioterapia con el objetivo de reducir el número de leucocitos circulantes y, con ello, la posibilidad de complicaciones.

9. CONCLUSIONES

Las leucemias agudas cursan con un aumento brusco en el número de leucocitos en sangre periférica que puede derivar en leucostasis, signo de mal pronóstico.

La leucostasis se puede presentar con diversas manifestaciones clínicas, por lo que es importante conocer su sintomatología para realizar un diagnóstico temprano y someter al paciente a tratamiento lo antes posible, aumentando la posibilidad de éxito.

En el caso presentado, el debut de la leucemia se produce de manera inusual ya que la intensa leucocitosis provoca una isquemia cerebral relacionada con la oclusión de los vasos sanguíneos, lo que explica como una leucemia aguda pudo ser diagnosticada, inicialmente, como un ictus isquémico.

En este caso, el trabajo del laboratorio es fundamental ya que, por una parte, se descarta la sospecha inicial de ictus y, por otra, se confirma por los datos obtenidos que se trata de una leucemia aguda.

La situación de la paciente en cuanto a su avanzada edad y la gravedad de su patología en el momento del diagnóstico imposibilitan la aplicación de un tratamiento satisfactorio, debido a la posibilidad de producir complicaciones graves.

BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. Haferlach T, Schmidts I. The power and potential of integrated diagnostics in acute myeloid leukaemia. 2020;188(1):36-48.
2. Ferro JM, Infante J. Cerebrovascular manifestations in hematological diseases: an update. J Neurol. 2021;268(9):3480-3492.
3. Bewersdorf JP, Zeidan AM. Hyperleukocytosis and Leukostasis in Acute Myeloid Leukemia: Can a Better Understanding of the Underlying Molecular Pathophysiology Lead to Novel Treatments? Cells. 2020;9(10):2310

BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- González MI, Rebolledo AM, Fonseca DL. Paciente con livideses en miembros inferiores y leucemia mieloide aguda. Rev Asoc Colomb Dermatol Cir Dermatol. 2007;15(3):232-234.
- de la Fuente MI, Alderuccio JP, Losso IS. Central nervous system emergencies in haematological malignancies. Br J Haematology. 2020;189:1028-1037.
- Merino A. Manual de Citología de Sangre Periférica y Líquidos Biológicos. 2ª ed. Madrid: Editorial médica Panamericana; 2019.
- Moreno LP, Londoño D. Hiperleucocitosis asociada a leucostasis pulmonar y cerebral en leucemia mieloide aguda. Acta Med Colomb. 2011;36(2):90-92.
- Moraleda Jiménez JM. Pregrado de hematología. 4ª ed. Madrid: Luzán 5; 2017.
- Shiber JR, Fines RE. Cerebral hemorrhage due to hyperleucocytosis. J Emerg Med. 2011;40(6):674-677.
- Wellington Kriollo C, Campos Carbo L. Leucostasis cerebral por crisis blástica en leucemia mieloide crónica. Med Hoy. 2017;33(1):19-22.

32-VALOR DEL ESTUDIO CITOLÓGICO EN DERRAME PLEURAL DE ETIOLOGÍA DESCONOCIDA EN PACIENTE PEDIÁTRICO

Autores: Ylenia Pérez Arnaiz*¹; Daniel Gil Alós*², Buenaventura Buendía Ureña²

**Ambos autores han participado por igual*

¹Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

²Servicio de Hematología, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Palabras clave: Citocentrifugación, Líquido pleural, Linfoma no-Hodgkin

1. INTRODUCCIÓN

Los linfomas no-Hodgkin (LNH) constituyen un grupo heterogéneo de neoplasias hematológicas caracterizadas por una proliferación clonal de células linfoides de estirpes B, T, o en un menor número de casos, células NK, en tejidos linforreticulares (médula ósea, ganglios linfáticos, bazo, hígado, timo y aparato digestivo). Debido a la amplia variabilidad etiológica, morfológica, inmunofenotípica y genética, se pueden distinguir hasta 40 subtipos histológicos de LNH.

Los LNH son infrecuentes en población pediátrica, con una incidencia anual de aproximadamente 1 de cada 100.000 individuos. Tradicionalmente, estos linfomas se han dividido en dos grandes grupos en cuanto a su historia natural: indolentes (bajo grado) y agresivos (alto grado).

En niños y adolescentes, los más frecuentes son los linfomas de alto grado, que se caracterizan por una rápida progresión. Pueden debutar en forma de compresión de estructuras anatómicas adyacentes debido al rápido crecimiento de las adenopatías o masas, pudiendo provocar también un síndrome de lisis tumoral, con alteraciones iónicas y fracaso renal agudo.

2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

2.1 Motivo de consulta

Traslado desde otro hospital por derrame pleural.

2.2 Antecedentes personales

Episodios de broncoespasmo secundario a infecciones respiratorias. No ingresos ni cirugías previas.

2.3 Antecedentes familiares

Madre: hipotiroidismo.

Abuelo paterno: cáncer de colon.

Tía materna: cáncer de mama

Abuela materna fallecida a los 42 años por ictus.

Abuelo materno fallecido por carcinoma microcítico pulmonar.

2.4 Enfermedad actual

Varón de 4 años trasladado desde otro hospital por derrame pleural.

Cuadro de 48 horas de evolución de tos seca y dificultad respiratoria con mejoría parcial tras administración de salbutamol en domicilio.

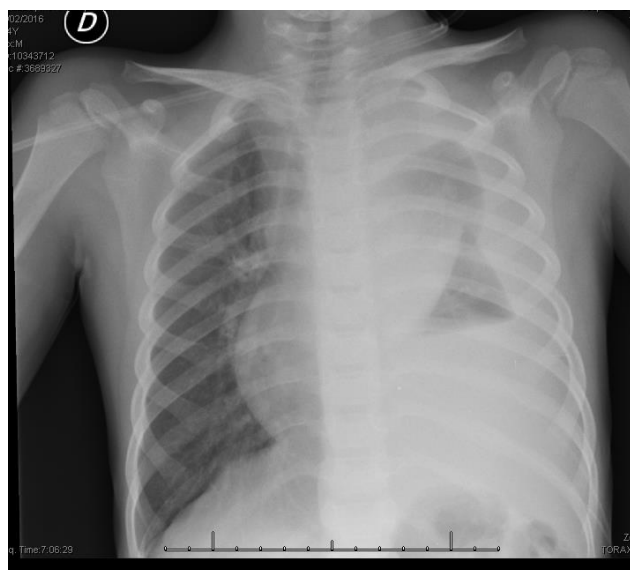


Figura 1. Radiografía de tórax en proyección posteroanterior realizada a su llegada a nuestro centro. Elaboración propia.

Inicia febrícula de hasta 37.7°C y dolor en hemitórax izquierdo de pocas horas de evolución por lo que acuden a su hospital de referencia donde evidencian tiraje supraesternal e infraesternal, taquipnea con frecuencia respiratoria de 30 rpm (IR: 20-25 rpm), hipoventilación en campo izquierdo anterior. Se administra salbutamol y metilprednisolona (1.5 mg/Kg) sin mejoría.

Por ello, se realiza radiografía de tórax en la que se evidencia opacificación completa del campo pulmonar izquierdo, con sospecha de derrame pleural masivo que desplaza las estructuras mediastínicas y ocasiona atelectasia compresiva importante. Figura 1.

Se realiza extracción sanguínea para bioquímica, hemograma y hemocultivo. Se inicia oxigenoterapia con gafas nasales, dieta absoluta y sueroterapia intravenosa. Se contacta con nuestro hospital para traslado.

2.5 Exploración física

Auscultación pulmonar con hipoventilación de campo izquierdo, de predominio en zona basal, sin ruidos sobreañadidos. Auscultación cardíaca: desviación de los tonos cardíacos a la derecha, rítmico, sin soplos. Abdomen: blando, depresible, no doloroso a la palpación. Signos meníngeos negativos, no rigidez de nuca. Alerta, obedece órdenes, lenguaje sencillo.

Frecuencia cardíaca: 155 lpm. Sat O₂ 99% con gafas nasales a 1lpm. Aceptable estado general. Tiraje subcostal e intercostal. Taquipnea a 34 rpm. Leve palidez cutánea

3. INFORME DEL LABORATORIO

En la analítica, presenta perfil renal y hepático sin alteraciones. No se observan aumento de reactantes de fase aguda. En la Tabla 1 se muestran los únicos parámetros solicitados que presentan alteraciones.

Parámetros	Valor	IR
Glucosa	155 mg/dL	60-100 mg/dL
PCR	1'01 mg/dL	0'10-0'50 mg/dL
Leucocitos	13'2 x1.000/μL	5-15 x1.000/μL
- Neutrófilos	11'4 x1.000/μL	1'5-8 x1.000/μL
- Linfocitos	1 x1.000/μL	2'4-9 x1.000/μL
Coagulación		
- Actividad de protrombina	66%	75-140%
- Tiempo de protrombina	14	9'7-13'9 s
- INR	1'32	0'80-1'20
- Fibrinógeno derivado	695 mg/dL	200-560 mg/dL

Tabla 1. Informe de laboratorio. Extracción sanguínea realizada a la llegada del paciente a Urgencias. Sólo se exponen los parámetros alterados. (IR: Intervalo de referencia). Elaboración propia.

Parámetros	Valor	IR
Glucosa (LP)	80 mg/dL	
LDH (LP)	990 U/L	
Proteínas (LP)	4'1 g/dL	
Hematíes (LP)	89.845 células/μL	0 células/μL
Leucocitos (LP)	29.417 células/μL	
- PMN	1%	<250 células/μL
- MN	99%	

Tabla 2. Informe de laboratorio. Muestra de líquido pleural obtenida por toracocentesis. (PMN:polimorfonucleares; MN: mononucleares; IR: intervalo de referencia). Elaboración propia.

Parámetro	Valor	Intervalo de referencia
LDH	472 U/L	120-300 mg/dL
Ácido úrico	8'3 mg/dL	2'2-7'7 mg/dL

Tabla 3. Informe de laboratorio. Ampliación tras la observación del líquido pleural.
Elaboración propia.

Se solicita frotis de sangre periférica en el que no se observan alteraciones morfológicas significativas ni formas celulares inmaduras.

Destaca actividad de protrombina de 66% y se administra vitamina K intravenosa (10 mg) para la realización de toracocentesis diagnóstica. Se remite el líquido pleural al laboratorio para el estudio citológico y bioquímico, obteniéndose los siguientes resultados (Tabla 2):

Debido a la marcada elevación de LDH en líquido pleural se decide desde laboratorio realizar citocentrífuga y tinción para estudio al microscopio óptico con el fin de descartar malignidad. Se observa que prácticamente la totalidad de estas células mononucleares son células de hábito blástico (Figura 2A y 2B), con elevada relación núcleo-citoplasma, cromatina laxa, algunas de ellas con núcleo “en forma de flor” (Figura 2C) y nucléolo visible, citoplasma escaso, basófilo.

El estudio citológico en el laboratorio del líquido pleural orienta hacia una posible patología maligna por lo que se amplían LDH y ácido úrico en plasma para descartar datos de lisis tumoral (Tabla 3).

4. DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES

Los principales diagnósticos diferenciales a considerar en el caso de una masa mediastínica anterior son:

- Tumoral:
 - Linfoma/Leucemia linfoblástica T
 - Lo más probable en este grupo de edad, sobre todo teniendo en cuenta la rápida evolución. La denominación de leucemia o linfoma linfoblástico vendrá definida según si la infiltración en médula ósea sea mayor o menor al 20%, respectivamente.
 - Otros linfomas no Hodgkin (como el linfoma anaplásico de células grandes T, el linfoma B difuso de células grandes mediastínico primario...)
 - Linfoma Hodgkin
 - Teratoma
 - Timoma
- Bocio Tiroideo

5. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

Los resultados obtenidos en líquido pleural son sugestivos de malignidad. Por ello, se realiza TAC de tórax-abdomen-pelvis en el que se observa una masa en mediastino anterior que mide aproximadamente 7.3 x 6.8 x 7.2 cm de ejes TR x AP x CC, asociada a implantes pleurales izquierdos y conglomerado adenopático retroperitoneal sugestivo de síndrome linfoproliferativo. Figura 3.

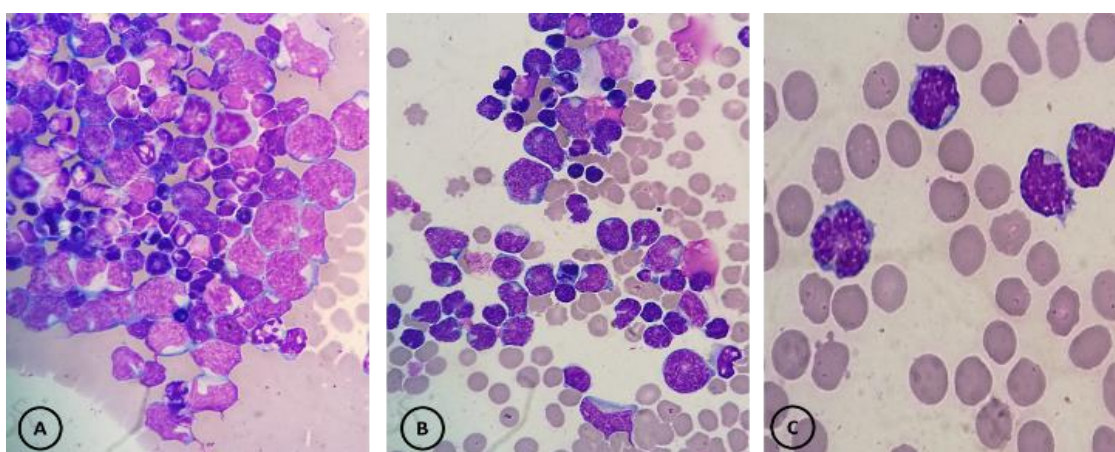
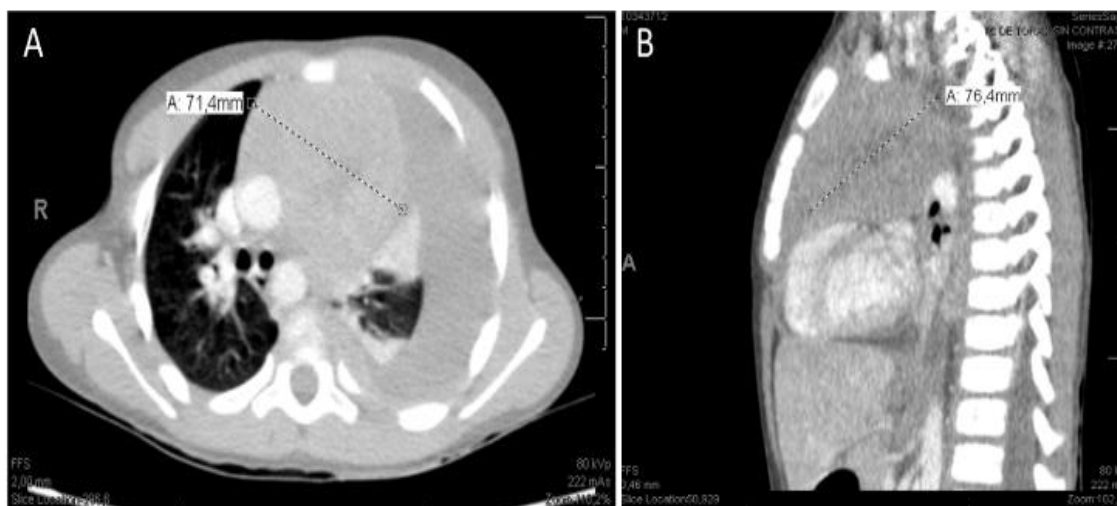


Figura 2 A, B y C. Imágenes de microscopía óptica de citología tras citocentrífuga de líquido pleural. En A y B se puede observar la infiltración masiva por linfocitos de pequeño-mediano tamaño, con núcleo irregular y, las células de hábito blástico de mayor tamaño, cromatina laxa con algunos nucléolos. En la figura 3C se observa con mayor detalle la morfología típica con núcleo irregular, polibulado, que pueden adoptar los blastos linfoides T. Elaboración propia.



Figuras 3A y 3B. Imágenes de tomografía computarizada (TC) torácica tomadas mediante cortes transversal y sagital, respectivamente. Se observa una masa mediastínica de más de 7 cm de diámetro mayor junto al derrame pleural izquierdo. Elaboración propia.

Tras la observación en el laboratorio de células de aparente hábito blástico, se envía muestra de líquido pleural al Servicio de Anatomía Patológica para inmunofenotipado.

Adicionalmente, se realiza estudio de extensión con aspirado y biopsia de médula ósea y punción lumbar.

Por un lado, el estudio anatomopatológico de la biopsia osteomedular, conformado por estudio macroscópico, microscópico e inmunohistoquímico, destaca la presencia de un infiltrado linfóide con expresión CD2+, CD3+, CD4+, CD7+ y CD8+, con un 5%, aproximadamente, de células blásticas con expresión focal de CD1a.

El estudio citológico del aspirado medular refleja una muestra con escaso grumo e hipocelular con linfocitosis en distintos estadios de maduración compatible con la edad y con infiltración de un 4% de blastos de hábito aparentemente linfóide. Con el fin de verificar la presencia de población blástica en el aspirado, se remite muestra para análisis de citometría de flujo, confirmando una mínima infiltración de médula ósea por un 0.4% de blastos linfoides T con expresión CD1a+, CD2+, CD3+ citoplasmático, CD4+, CD7+, CD8+, CD99++. Además, se envía muestra de aspirado para estudio de biología molecular. Se realiza análisis de fragmentos en el que se detecta reordenamiento en el receptor TCR de linfocitos T, sugestivo de clonalidad, y secuenciación masiva por NGS, localizando una variante clasificada como probablemente patogénica c.5162T>G (p. Val1721Gly) en el gen *NOTCH1*.

Por otro lado, en cuanto al estudio del líquido pleural, los resultados del estudio del inmunofenotipo celular concuerdan con el diagnóstico en médula ósea al determinar una infiltración pleural por blastos linfoides T en estadio cortical con expresión CD1a+, CD2+, CD3+ citoplasmático, CD4+, CD7+, CD8+. Figura 4. Además, se realiza secuenciación masiva y se objetiva una variante en el gen *NOTCH1* con una frecuencia alélica del 44,3% clasificada como probablemente patogénica.

El estudio de citometría de flujo realizado en LCR descarta la presencia de blastos en el sistema nervioso central (SNC).

6. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Infiltración medular y pleural por leucemia/linfoma linfoblástico T cortical en estadio IV con mutación *NOTCH1* y cariotipo normal.

7. EVOLUCIÓN

Se inicia tratamiento para el síndrome de lisis tumoral con rasburicasa e hidratación intensiva, así como prefase citorreductora con metilprednisolona.

Tras confirmarse el diagnóstico y completar el estudio, se incluye al paciente dentro del ensayo clínico LBL2018 "International cooperative treatment protocol for children and adolescents with lymphoblastic lymphoma".

Inicia tratamiento de inducción la según el protocolo del estudio. Al finalizar la inducción se realiza TAC de tórax de reevaluación, encontrándose en respuesta completa. Continúa con tratamiento de inducción Ib, con nueva reevaluación al final. Posteriormente prosigue con las fases sucesivas del protocolo, como complicaciones presenta un episodio de neutropenia febril sin aislamientos microbiológicos que se manejó con antibioterapia de amplio espectro y un deterioro de función renal en relación con dosis de altas de metotrexate. En el momento actual se encuentra a 1 año tras el inicio de tratamiento, continúa con el tratamiento de mantenimiento y permanece en remisión completa.

8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

La tercera neoplasia más común en la infancia es el linfoma, englobando tanto el linfoma de Hodgkin como el linfoma no

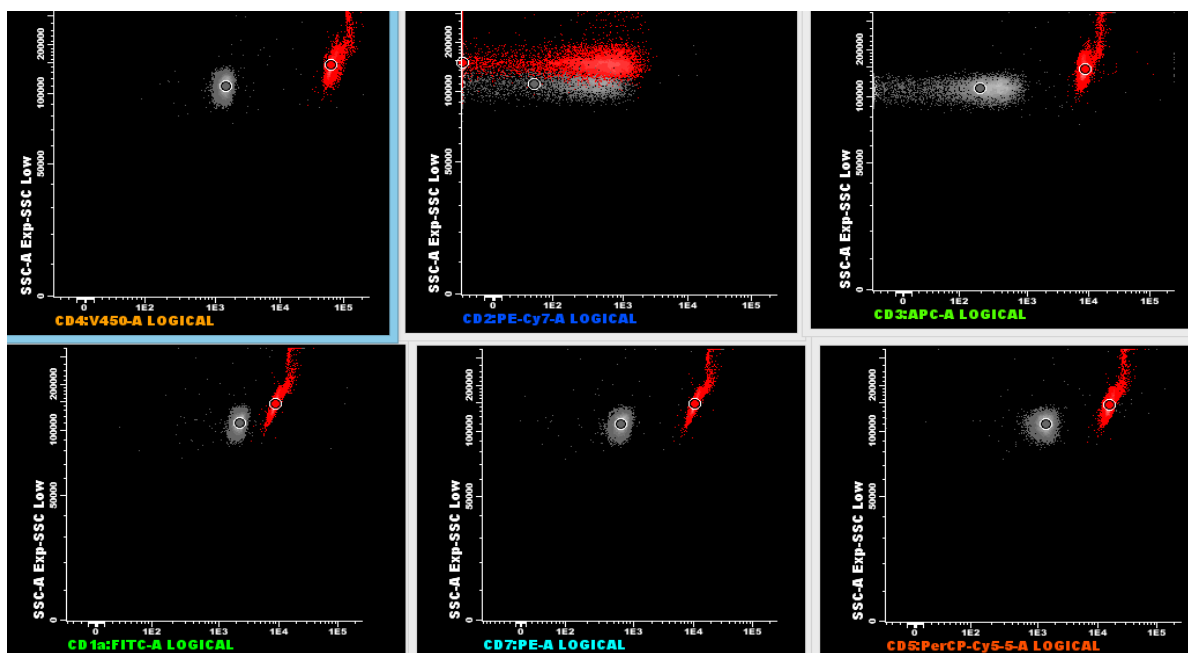


Figura 4. Gráficos de dispersión correspondientes al análisis por citometría de flujo del líquido pleural. En color rojo se puede observar la población de blastos linfoides T CD1a+, CD2+, CD3+ citoplasmático, CD4+, CD7+, CD8+. Elaboración propia.

Hodking, siendo el LNH predominante en población pediátrica de edades inferiores a 15 años.

Entre los LNH encontramos hasta 40 subtipos histológicos, siendo los más comunes en pacientes pediátricos el linfoma de Burkitt, linfoma linfoblástico, linfoma anaplásico de células grandes y linfoma de células B difuso.

El linfoma linfoblástico se caracteriza por una proliferación de linfoblastos tanto en médula ósea como en sangre periférica.

Histológicamente, los linfomas linfoblásticos modifican parcial o totalmente la estructura celular de los ganglios linfáticos. Las células linfoblásticas se caracterizan por ser de tamaño mediano, con elevada relación núcleo-citoplasma, citoplasma basófilo, cromatina laxa y nucleolo pequeño visible.

Inmunofenotípicamente, la mayoría de linfomas linfoblásticos son de estirpe T y suelen expresar marcadores de diferenciación linfoide temprana, como CD34, CD10 y desoxinucleotidil transferasa terminal (TdT). Además, los linfomas linfoblásticos T (LBL-T) expresan otros antígenos de superficie como CD1a, CD2, CD3, CD4, CD5, CD7 y CD8. En función de los antígenos de superficie expresados, se pueden subclasificar las neoplasias linfoblásticas T en distintos estadios (Tabla 4)

A nivel genético, se conocen distintas anomalías cromosómicas recurrentes en este tipo de neoplasias, entre las que se encuentran distintas traslocaciones recíprocas en las que se ven afectados genes que codifican para factores de transcripción claves en el desarrollo celular de los linfocitos, conllevando a una sobreexpresión de estos. Además, gracias a los estudios moleculares de secuenciación, se han podido conocer qué variantes en ciertos oncogenes son claves en el desarrollo de la

neoplasia, así como en las posibles implicaciones terapéuticas y pronósticas.

En este caso, cabe destacar la presencia de una variante probablemente patogénica en el gen *NOTCH1*. La familia de genes *NOTCH* codifican receptores transmembrana altamente conservados que forman parte de vías de señalización clave en distintos procesos celulares como proliferación, crecimiento, migración, diferenciación y apoptosis. El receptor Notch1 es clave en el mecanismo molecular implicado en la diferenciación celular de progenitores de linfocitos T, habiéndose descrito variantes patogénicas o probablemente patogénicas en *NOTCH1* en leucemia linfoblástica aguda de células T (LLA-T), leucemia linfocítica crónica (LLC) y tumores sólidos. Linfomas en los que se han descrito mutaciones en genes *NOTCH* en niños se han asociado con mejor pronóstico de la enfermedad.

La presentación clínica de los linfomas es muy variada, esta dependerá de la localización y de la extensión de la neoplasia. Los pacientes pediátricos, generalmente, presentan afectación extraganglionar (abdominal, mediastínica o en la región de la cabeza y el cuello). Los linfomas linfoblásticos de células T suelen presentarse en forma de masa extraganglionar en el mediastino o la región de la cabeza y cuello. En este caso, el paciente presenta una masa mediastínica que comprime distintas estructuras anatómicas dando lugar a un espectro de síntomas respiratorios como disnea, tos o derrame pleural asociados. Además, se puede dar afectación del sistema nervioso central caracterizada por parálisis de los pares craneales o pleocitosis del líquido cefalorraquídeo. En algunos casos, se puede encontrar infiltración de médula ósea. Se considera leucemia si entre el 20-30% de la médula ósea está infiltrada por linfoblastos, mientras que, si la infiltración es menor de

Estadio	Inmunofenotipo
Etapas tempranas doble negativa	CD1a-, CD3+ citoplasmático, CD7 +
Estadio tímico cortical temprano	CD1a +, CD2 +, CD3+ citoplasmático (a menudo CD4 +, CD8 +, CD5 +, CD7 +, CD21 +)
Estadio tímico cortical tardío	CD1a-, CD2 +, CD3+ de superficie, CD5 +, CD4+ o CD8 +

Tabla 4. Subclasificación inmunofenotípica de neoplasias linfoblásticas T. Adaptado de: Sandlund JT, Onciu M. Linfoma infantil. En: Abeloff. Oncología clínica. 6ªed. Elsevier. 1765-1782.

dicho porcentaje, se trataría de un LNH en estadio avanzado con afectación medular.

Por tanto, teniendo en cuenta todo lo expuesto anteriormente, para realizar el diagnóstico es necesario realizar un estudio en el que se incluya anamnesis, exploración física, hemograma completo, pruebas bioquímicas de función renal, función hepática y ácido úrico. Además, deben realizarse biopsia y el aspirado de médula ósea; y estudios de imagen como TAC de tórax, abdomen y pelvis. En los casos que presenten un derrame pleural asociado, se debe realizar una toracocentesis para obtención de líquido pleural ya que el estudio citológico de este suele ser diagnóstico. Por último, es necesario realizar una punción lumbar para descartar infiltración del SNC.

El tratamiento de elección del linfoma linfoblástico T es la quimioterapia, empleando generalmente una combinación de múltiples fármacos (corticoides, metotrexato a dosis altas, ciclofosfamida, citarabina, vincristina, antraciclinas y L-asparaginasa). Para elegir el esquema adecuado, se suelen estratificar los pacientes en función del riesgo, y esta clasificación se realiza en base al estadio según la extensión de la enfermedad al diagnóstico (limitado: estadios I y II; avanzado: estadios III y IV). Uno de los fármacos más recientemente aprobados para el LBL-T y la LLA-T es la nelarabina. Es un profármaco hidrosoluble del análogo de la guanosina (ara-G). En diversos estudios se ha visto que disminuye el riesgo de recidiva a nivel de SNC en la LLA-T y parece mejorar la supervivencia global en algún estudio en LBL-T y LLA-T. Sin embargo, no hay claro consenso sobre si el mejor momento para emplearlo es en primera línea y tras la recaída.

En los últimos años, gracias a los nuevos esquemas de tratamiento, el pronóstico de estos pacientes ha mejorado considerablemente, especialmente en la población pediátrica, en la que hasta un 80% de los pacientes pueden mantener una remisión completa de la enfermedad a largo plazo. Aun así, es importante un diagnóstico rápido y completo, integrando el estudio citológico y anatomopatológico con las técnicas de citometría de flujo, citogenética y biología molecular. Además, en este caso, cabe destacar la relevancia de la citocentrifugación como técnica rápida y de bajo coste que permite una correcta visualización y clasificación de los elementos formes presentes en los líquidos biológicos. Gracias a ella, fue

posible la observación de formas inmaduras en el líquido pleural que hicieron sospechar de una patología hematológica en un paciente con hemograma y frotis de sangre periférica sin alteraciones en las líneas hematopoyéticas.

BIBLIOGRAFIA GENERAL

- Santos L, León-Galván MF, Marino-Marmolejo EN. Vía de señalización Notch y nuevas estrategias para el tratamiento de cáncer. Salud Pública Mex. Vol.48 no.2. 2006
- Mosquera Sáiz M. Estudio de la contribución de la vía de Notch1 y sus efectores moleculares a la patogénesis de la leucemia T linfoblástica aguda (T-ALL) [tesis doctoral] Madrid. 2015
- Ruiz de Adana Pérez R, Muñoz Tarín G, Morales López R. Linfomas no Hodgkin. Fistera. 2021.
- Tovar JA, Martínez L. Tumores mediastínicos. En: Holcomb y Ashcraft. Cirugía pediátrica. 7ª ed. España: Elsevier; 2021. p.403-421
- Duffiel AS, Racke FK, Borowitz MJ. Precursor B- and T-Cell Neoplasms. En: Hematopathology. 2ªed. Philadelphia: Elsevier; 2017. p. 761-773.
- Abeloff. Oncología Clínica. 6ªed. Elsevier. 1765-1782.
- Burkhardt B, Hermiston ML. Lymphoblastic lymphoma in children and adolescents: review of current challenges and future opportunities. Br J Haematol. 2019;185(6):1158-1170.
- Kroeze E, Loeffen JLC, Poort VM, Meijerink JPP. T-cell lymphoblastic lymphoma and leukemia: different diseases from a common premalignant progenitor?. Blood Adv. 2020;4(14):3466-3473.
- Kadia TM, Gandhi V. Nelarabine in the treatment of pediatric and adult patients with T-cell acute lymphoblastic leukemia and lymphoma. Expert Rev Hematol. 2017;10(1):1-8.
- Teachey DT, O'Connor D. How I treat newly diagnosed T-cell acute lymphoblastic leukemia and T-cell lymphoblastic lymphoma in children. Blood. 2020;135(3):159–166

BLOQUE IX

PEDIATRÍA

33-ENFERMEDAD DE ORINA CON OLOR A JARABE DE ARCE: A PROPÓSITO DE UN CASO CLÍNICO

Autor: Daniel Párraga García, José Miguel Comino.

Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid.

Palabras clave: Jarabe de Arce, Metabolopatías, MSUD.

1. INTRODUCCIÓN

La enfermedad de orina con olor a jarabe de arce (MSUD, en inglés "*Maple Syrup Urine Disease*"), es una enfermedad metabólica caracterizada por la acumulación de aminoácidos de cadena ramificada y de alfa-cetoácidos ramificados. Los pacientes con esta enfermedad presentan un olor particular en la orina, semejante al sirope de arce¹.

El diagnóstico de esta enfermedad enzimática comienza detectándose concentraciones en plasma de aminoácidos de cadena ramificada (valina, leucina e isoleucina (BCAA). Más tarde se pueden identificar cetoácidos ramificados (BCKA), sugiriendo que el defecto metabólico se encuentra en la descarboxilación de los cetoácidos.

La MSUD es una enfermedad de herencia autosómica recesiva, con una prevalencia de 1:185.000 en recién nacidos. Mediante técnicas de genética molecular, se ha conseguido identificar las mutaciones responsables del defecto genético del complejo enzimático localizando sus genes codificantes.

2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

2.1 Motivo de consulta:

Niña procedente de Guinea Ecuatorial que con 2 meses de edad acude al centro hospitalario, con episodios de hipotonía y succión débil. Tras valorar a la paciente se recomienda tratar el caso en un centro especializado por sospecha de encefalopatía metabólica de debut neonatal.

2.2 Antecedentes personales:

Entre los antecedentes personales destacan:

- Recién nacido a término (38 semanas) por cesárea debido a crecimiento intrauterino restringido (CIR) y presentación transversa durante el parto. El CIR se trata de una condición en la que el crecimiento del bebé se ralentiza o cesa en el útero por debajo del percentil 3 para esa edad gestacional. Es un problema relativamente común, afecta en sus diferentes grados a un 8-10% de los embarazos
- La paciente no presenta alergias conocidas.

2.3 Antecedentes familiares:

Familia procedente de Guinea Ecuatorial.

- Madre sana según refiere. Control del embarazo y serologías maternas desconocidas. La madre informa haber tenido fiebre tifoidea al final del embarazo.
- Padre sano.

- Tres hermanos sanos.

2.4 Enfermedad actual:

Ingresa en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatal a los 7 días de vida con:

- Sospecha diagnóstica de encefalopatía metabólica, presentando síntomas tales como hipotonía generalizada y succión débil desde los 5 días de vida, junto con crisis convulsivas durante ingreso manejadas con fenobarbital.
- Sospecha de sepsis, recibiendo antibioterapia de amplio espectro durante 21 días y Aciclovir 7 días por sospecha de encefalitis.
- Laringomalacia y posible traqueomalacia.

Tras sospecha de encefalopatía metabólica, pasa a planta de pediatría para valorar el problema

2.5 Exploración física:

- Talla: 50 cm, siendo 3,2 desviaciones estándar negativas con respecto al consenso de 2010 y -4,7 según la Organización Mundial de la Salud (OMS).
- Peso: 3,1 Kg, siendo 3,2 desviaciones estándar negativas con respecto al consenso de 2010 y -3,6 según la OMS.
- IMC de 12,4 Kg/m², estando -2,7 desviaciones estándar por debajo del consenso 2010 y -2,6 según OMS.
- Superficie corporal 0,21 m².
- Perímetro cefálico de 35 cm, -3,6 desviaciones estándar por debajo de criterios de la OMS.

La paciente presenta un aspecto desnutrido, pese a encontrarse bien hidratada y perfundida. Se observa hernia umbilical reducible, abdomen distendido pero blando y depresible, y auscultación cardíaca rítmica sin soplos.

Con respecto a la auscultación pulmonar, se evidencia estridor inspiratorio audible sin fonendo, buena entrada de aire bilateral y simétrica.

Paciente consciente y alerta, con movimientos de los miembros superiores en extensión y rotación interna.

Presenta una marcada hipotonía, con postura en libro abierto y movimientos oculares normales. La fontanela anterior es normotensa y se observan manchas amoratadas en miembro superior izquierdo.

3. INFORME DEL LABORATORIO

Tras la sospecha de enfermedad metabólica, se realiza el análisis bioquímico de enfermedades metabólicas hereditarias.

Se utilizan muestras de suero donde se cuantifican los aminoácidos por la técnica de cromatografía de intercambio

iónico. En la Tabla 1 se muestran los valores con un fuerte aumento con respecto a la normalidad.

Se analizan también los ácidos orgánicos en orina por la técnica de GC/MS (cromatografía de gases acoplada a un espectrómetro de masas). Se muestran los resultados alterados en la Tabla 2.

PARÁMETROS	μmol/L	Valores de referencia
Valina	897	149±48
Isoleucina	838	50±21
Leucina	4.025	98±38
Alo isoleucina	289	<5

Tabla 3. Estudio de aminoácidos en suero por cromatografía de intercambio iónico. Elaboración propia.

PARÁMETROS (ORINA)	mmol/mol creatinina	Valores de referencia
METABOLITOS COMPATIBLES CON MSUD		
Ácido 2-OH-isovalérico	1.297	0-9
Ácido 2-oxo-3ME-valérico	173	No detectable
Ácido 2-oxo-isocaproico	328	No detectable
Ácido 2-OH-isocaproico	289	No detectable
Ácido 2-OH-3-Me-valérico	495	No detectable
METABOLITOS DE ACIDOSIS LÁCTICA		
Ácido láctico	10.953	5-113
Ácido 2-OH-butírico	189	0-4
METABOLITOS DE CETOSIS		
Ácido acetoacético	826	0-7
Ácido 3-OH-butírico	7.875	2-17
OTROS METABOLITOS		
Ácido glicólico	858	9-143
Ácido 3-OH-propiónico	186	5-27
Ácido 3-OH-isovalérico	416	1-40
Ácido glicérico	656	1-26
Ácido 4-OH-fenil láctico	465	0-8
Ácido 4-OH-fenil pirúvico	491	0-14

Tabla 2. Estudio de metabolitos en orina analizados por cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC/MS). MSUD: enfermedad de orina con olor a Jarabe de Arce, por sus siglas en inglés. Elaboración propia.

4. DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES

Los resultados obtenidos son compatibles con la enfermedad de orina con olor a jarabe de arce.

Para confirmar la enfermedad, se precisa realizar el análisis de mutaciones.

5. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

Para realizar el análisis de mutaciones, se envía al laboratorio una muestra anticoagulada de 2-3 mL de sangre a temperatura ambiente, y sangre impregnada en papel de los padres. Para el análisis de dicha muestra se requiere cumplimentar el documento de consentimiento informado.

Tras el envío de las muestras de sangre indicadas anteriormente, se analizan con la siguiente metodología:

- Extracción de DNA (MagNa Pure, Roche).
- Secuenciación masiva (Panel Nextera Rapid Capture ID.49418 y Miseq de Illumina).
- Análisis Bioinformático (DNAnexus y VariantStudio).
- Confirmación por secuenciación de Sanger (BigDye v3.1 Applied Biosystems).
- Análisis Bioinformático de mutaciones (Alamut® Visual Interactive Biosoftware, Mutalyzer 2.0.14).

Con ello se evidencian mutaciones en el gen *DBT* responsable de la deficiencia de la dihidrolipoamida

transacilasa de aminoácidos de cadena ramificada (Figura 1).

6. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Se diagnostica a la paciente con la enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce (MIM 248600). Se trata de una enfermedad ultra rara de origen metabólico, congénita de transmisión autosómica recesiva.

Tras conocer el diagnóstico se comienza un tratamiento específico de forma inmediata. Al iniciar el tratamiento de forma tardía, a los 2 meses del debut, la paciente se encuentra ya en una fase evolucionada y descompensada de la enfermedad.

7. EVOLUCIÓN

Una vez diagnosticada de la enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce, se inicia tratamiento con una dieta restringida en proteínas, con una fórmula que no contiene aminoácidos ramificados. Se aporta también carnitina, tiamina y fenilbutirato de sodio.

Tras la dieta, el seguimiento bioquímico está controlado salvo en episodios agudos donde la paciente tiene que ingresar (Tabla 3).

GEN: **DBT** GENE ID(1): **1629** MIM(2): **248610**
 LOCALIZACIÓN: **1p31**
 HERENCIA: **Autosómica recesiva** RIESGO RECURRENCIA POR EMBARAZO: **25%**

REF.	Parentesco	MUTACIONES *	
		Cambio nucleótido	Efecto predecible en la proteína
45488	CASO ÍNDICE	c.670G>T	p.Glu224Ter
		c.670G>T	p.Glu224Ter

Figura 1. Resultados del estudio de mutaciones para un paciente con sospecha de Enfermedad de jarabe de Arce. Fuente: Informe del Centro de Diagnóstico de Enfermedades Moleculares (CEDEM).

PARÁMETROS	μmol/L	Valores de referencia
Valina	120	149±48
Isoleucina	73	50±21
Leucina	103	98±38
Alo isoleucina	4	<5
Ratio alo-isoleucina/isoleucina	0,05	

Tabla 3. Estudio de aminoácidos en suero por cromatografía de intercambio iónico tras intervención dietética. Elaboración propia.

Además, se pauta levetiracetam (anticonvulsionante) por presencia de descargas epileptiformes interictales del electroencefalograma (EEG). Se trata de descargas que no son parte de una crisis, es decir, que no están acompañadas de signos de comportamiento estereotipado o cambios de la conciencia.

La paciente precisa alimentación por sonda nasogástrica por lo que se realiza cirugía programada con gastrostomía y Funduplicatura de Nissen (cirugía para tratar la enfermedad por reflujo gastroesofágico).

A nivel neurológico presenta encefalopatía grave con tetraparesia espástica (parálisis que afecta a todo el cuerpo), manteniendo contacto visual.

Se recomienda a su vez seguimiento bioquímico periódico de la enfermedad.

A los dos años de edad es ingresada en el contexto de una gastroenteritis aguda, requiriendo sueroterapia intravenosa.

A lo largo de los 3 años precisa 12 ingresos, con una frecuencia aproximada de uno al mes, por descompensaciones metabólicas (clínica de vómitos y cetonemia), estando correctamente ajustado el tratamiento dietético. Durante estos episodios la paciente presenta aumento de leucina.

A los 4 años, cambia el tratamiento antiepiléptico debido al mal control de las mismas, aumentando la dosis (brivaracetam y lacosamida).

Todo ello ha supuesto un empeoramiento de la calidad de vida de la paciente dificultando su asistencia al colegio, así como el manejo de sus cuidadores.

Se solicita a la unidad de cuidados paliativos del hospital infantil ayuda a fin de mejorar la calidad de vida del paciente.

8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

Los aminoácidos esenciales de cadena ramificada (BCAA) constituyen la mitad de los requerimientos dietéticos. Sus funciones abarcan²:

- La síntesis proteica.
- La síntesis de ácidos grasos y colesterol.

- La restauración del balance nitrogenado.
- Contribuyen a minimizar del catabolismo observado en sepsis y politraumatismos.

Tras entrar en la célula mediante transportadores independientes de sodio, la valina, leucina e isoleucina siguen el siguiente proceso:

- Descarbamilación citosólica o mitocondrial, dando como resultado cetoácidos ramificados.
- Descarboxilación oxidativa mitocondrial, resultando en subproductos derivados de coenzima A.
- Ingreso de los productos obtenidos al ciclo de Krebs, gluconeogénesis, etc.

Lo que ocurre en la enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce, es que el complejo enzimático responsable de metabolizar los cetoácidos de cadena ramificada no funciona correctamente, acumulándose los metabolitos iniciales del proceso hasta llegar a niveles tóxicos para el paciente (Figura 2).

Este efecto tóxico afecta especialmente al cerebro, donde produce disfunción y muerte neuronal, mediante el siguiente mecanismo: la existencia conjunta en el cerebro de edema citotóxico y de edema intersticial producido por lo típicos mediadores inflamatorios, genera un edema cerebral responsable del abombamiento de fontanelas y de diastasis de suturas, causando la muerte del paciente.

Con respecto a las manifestaciones clínicas, se observa una encefalopatía aguda durante los primeros días de vida. La presencia de niveles normales de amonio, en ausencia de acidosis metabólica en un neonato en coma o con signos de encefalopatía debe de hacer sospechar de la enfermedad.

La detección precoz es un factor determinante para evitar secuelas neurológicas irreversibles. Las manifestaciones más precoces se dan al cuarto día de vida y son la letargia y la succión pobre. A partir de la semana se presenta pérdida de peso y cambios de tono muscular, siendo el momento en el que se empieza a observar olor a sirope de arce en la orina. En la segunda semana aparecen signo de hipertensión

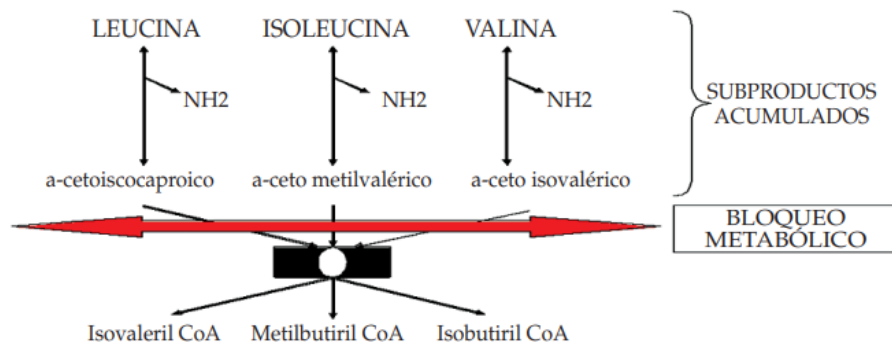


Figura 2. Ruta metabólica de degradación de los aminoácidos esenciales de cadena ramificada y su bloqueo por el déficit enzimático en enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce. Obtenido de: Gómez-Castro JF, 2008¹,

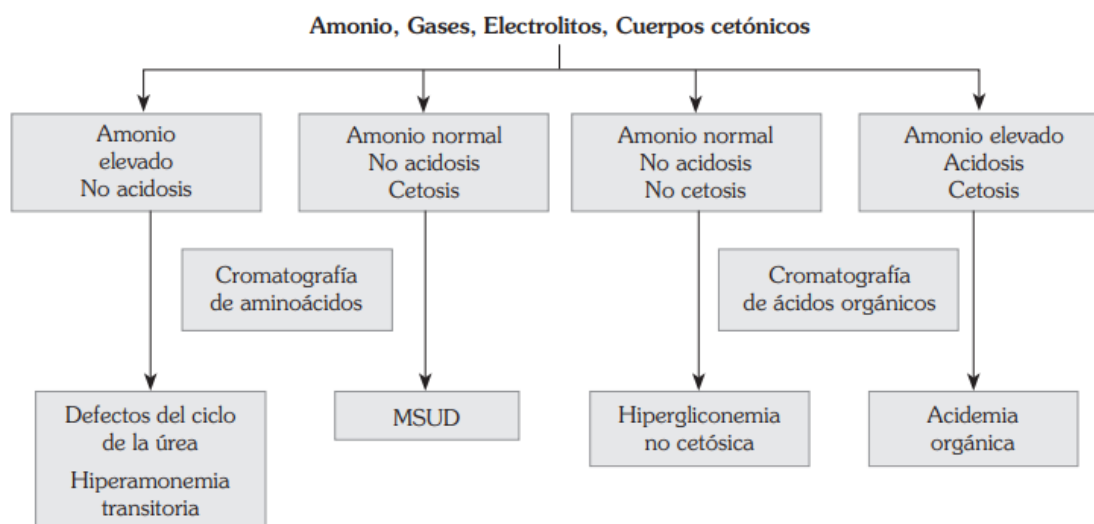


Figura 3. Enfoque diagnóstico del neonato encefalopático. Obtenido de: Hoffman G, 2004³.

craneal hasta que finalmente se llega al coma y la muerte. En la Figura 3 se muestra el algoritmo diagnóstico para el neonato encefalopático.

El tratamiento más eficaz es limitar el consumo de aminoácidos ramificados en la dieta hasta llegar al mínimo estrictamente necesario para satisfacer los requerimientos en el crecimiento y desarrollo.

Un buen control metabólico se correlaciona con un mejor resultado intelectual largo plazo.

La instauración de cribados neonatales para esta y otras patologías metabólicas facilitarían el diagnóstico precoz y mejorarían la mortalidad y morbilidad del neonato.

BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. Gómez-Castro JF, Espinosa-García E, Barrera LA, Echeverry OY. Enfermedad de orina en jarabe de arce: mejoría clínica asociada a detección precoz y manejo oportuno. Reporte de caso y revisión de literatura. Rev Med. 2008;16(1):99–105.
2. Couce Pico ML, Castiñeiras Ramos DE, Bóveda Fontán MD, Iglesias Rodríguez AJ, Cocho De Juan JA, Fraga Bermúdez JM. Avances en el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad de jarabe de arce, experiencia en Galicia. An Pediatr. 2007;67(4):337–343.
3. Hoffman G, Zschocke J, Nyhan WL. Inherited metabolic diseases: a clinical approach. 2ª ed. Philadelphia: Springer; 2017.

