

# CLIN12LAB

Libro de Casos Clínicos  
de los Laboratorios Clínicos 2023



## Editores

Daniel Párraga García

Ylenia Pérez Arnaiz

Maialen Palomino Alonso

Laura Carrasco Parrón

Elena Ana 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

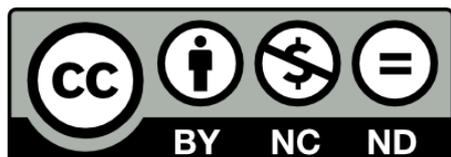
<https://www.comunidad.madrid/hospital/12octubre/profesionales/servicios-centrales/analisis-clinicos>

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

**Imagen de portada diseñada por Víctor Felipe Sanz Fernandez**

**I.S.B.N.: 978-84-09-53430-2**

**Madrid (España), 2023**



Esta obra está bajo una [licencia de Creative Commons Reconocimiento – NoComercial – SinObraDerivada 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).



# **CLIN12LAB**

## **Libro de Casos Clínicos de los Laboratorios del H12O 2023**

### **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](mailto: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](mailto: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](mailto: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](mailto: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](mailto:elenaana.lopez@salud.madrid.org)

# LISTADO DE COLABORADORES

Victor Felipe Sanz Fernández  
Diseñador Gráfico

# LISTADO DE AUTORES *(por orden alfabético)*

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

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

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

María Concepción Burgos Ballester  
Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos  
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

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

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

Cristina Domínguez González  
Unidad de Enfermedades Neuromusculares  
Instituto de Investigación del Hospital 12 de Octubre,  
Madrid

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

Antonio García Sánchez  
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

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

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

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

María de los Ángeles Iglesias de la Puente  
Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos  
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Paula Iniesta Del Río  
Laboratorio de Enfermedades Raras, Mitocondriales y Musculares  
Instituto de Investigación del Hospital 12 de Octubre, Madrid

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

Irene Lázaro Rodríguez  
Servicio de Pediatría  
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

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

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

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

Lucía Medina de Alba  
Servicio de Hematología y Hemoterapia  
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Reyes Mas Rubio  
Servicio de Hematología y Hemoterapia  
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Raquel Victoria Melgares de Aguilar  
Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos  
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

María Navarro Riquelme  
Laboratorio de Enfermedades Raras, Mitocondriales y Musculares  
Instituto de Investigación del Hospital 12 de Octubre, Madrid

Miguel Navarro Sánchez  
Servicio de Hematología y Hemoterapia  
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

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

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

Mónica Pascual Ramírez de Arellano  
Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos  
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Sara Peral 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

Guillermo Ramos Moreno  
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 del Valle Romero Real  
Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos  
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

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

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

José Manuel Sánchez Zapardiel  
Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos  
Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

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

Pablo Serrano Lorenzo  
Laboratorio de Enfermedades Raras, Mitocondriales y Musculares  
Instituto de Investigación del Hospital 12 de Octubre, Madrid

Kateryna Sidak  
Servicio de Análisis Clínicos  
Hospital Universitario Príncipe de Asturias, Alcalá de Henares

Emma Soengas Gonda  
Instituto de Investigación del Hospital 12 de Octubre  
Centro de Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Raras (CIBERER), Madrid

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

Andrea Tamayo Soto  
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

Tras el éxito alcanzado el año anterior con la publicación de la primera edición del Libro de “Casos Clínicos”, el Servicio de Bioquímica se ha marcado como objetivo para el presente año elaborar una segunda edición con la ilusión, si cabe, de intentar igualar e incluso superar a la anterior. Para ello se ha vuelto a contar con un nutrido y experimentado número de profesionales del área del Laboratorio Clínico, que no han escatimado esfuerzos y que con su ilusión, trabajo y profesionalidad han hecho posible que podamos disfrutar con la lectura de esta nueva edición.

En este punto, tengo que decir que es para mí un auténtico honor el poder hacer la presentación de esta nueva edición, puesto que he desarrollado toda mi actividad laboral de forma ininterrumpida durante 42 años en el Servicio de Bioquímica del Hospital Universitario 12 de Octubre, concretamente como Adjunto del Laboratorio de Urgencias del Centro Materno-Infantil durante 30 años y como Responsable de la Unidad de Monitorización de Fármacos durante mis últimos 12 años, hasta que cesé mi actividad laboral el año pasado por motivos de la jubilación. Además, tuve también la inmensa satisfacción de haber desempeñado el papel de Tutor de los residentes de la especialidad de Análisis Clínicos durante 20 años. Por todo ello, creo reunir el suficiente criterio científico y profesional como para decir que la herramienta formativa a través de los Casos Clínicos es fundamental durante el periodo de la residencia porque todos ellos están entresacados de la rutina diaria asistencial y, además, hay que establecer una interconexión multidisciplinaria con numerosos Servicios del hospital para poder llegar a un diagnóstico definitivo, lo cual obliga a que se tenga que realizar una revisión documental y bibliográfica exhaustiva por parte de los implicados en su desarrollo.

La presente edición va a reunir 39 Casos clínicos abordando temas tan diversos como enfermedades autoinmunes, gestión y calidad, endocrinología, farmacología y toxicología, genética y biología molecular, hematología, microbiología, enfermedades infecciosas, pediatría, etc... Sin duda alguna, que todos ellos van a reunir el interés suficiente como para que contribuyan a vuestra formación, pero también para que su lectura os haga disfrutar de los mismos.

Dr. Carlos Álvarez Vázquez.  
Ex-Responsable de la Unidad de Monitorización de Fármacos  
Servicio de Análisis Clínicos-Bioquímica. Hospital Universitario 12 de Octubre.



# ÍNDICE DE CONTENIDOS

## **BLOQUE I – ENDOCRINO.....16**

- 1- ACROMEGALIA: PAPEL ESENCIAL DEL LABORATORIO CLÍNICO EN EL DIAGNÓSTICO PRECOZ Y ELECCIÓN DEL TRATAMIENTO – Ilenia Liria González, Silvia Díaz Díaz, Adrián González Quintana.....17
- 2- ENFERMEDAD DE CUSHING. IMPORTANCIA DEL LABORATORIO EN EL CATETERISMO DE SENOS PETROSOS INFERIORES – Ilenia Liria González, Silvia Díaz Díaz, Adrián González Quintana.....20
- 3- PARÁLISIS PERIÓDICA TIROTÓXICA HIPOPOTASÉMICA – Celia Amil Manjón\*, Laura Carrasco Parrón\*, Adrián González Quintana.....25
- 4- TRATAMIENTO DE LA OBESIDAD CON AGONISTAS DE GLP-1 Y ELEVACIÓN DE LA CALCITONINA EN PRESENCIA DE NÓDULOS TIROIDEOS – José Miguel Comino Cáceres, Daniel Párraga García, Belén Ontañón Nasarre.....28

## **BLOQUE II – ENFERMEDADES AUTOINMUNES.....32**

- 5- CUADRO CONFUSIONAL POR ENCEFALITIS INMUNOMEDIADA, UN DIAGNÓSTICO COMPLEJO – Maialen Palomino Alonso\*, Ángel Camilo López Regueiro\*, Cecilia Cueto-Felgueroso Ojeda.....33
- 6- RESCATE CON RAPAMICINA EN CASO DE PÚRPURA TROMBOCITOPÉNICA AUTOINMUNE REFRACTARIA – Sara Peral García, Julia Sanz Gómez, Jon Sánchez Munárriz.....38

## **BLOQUE III – GENÉTICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR.....42**

- 7- DEFICIENCIA DE TIMIDINA QUINASA MITOCONDRIAL TIPO 2 (TK2) – María Navarro Riquelme, Pablo Serrano Lorenzo, Cristina Domínguez González.....43
- 8- DIABETES Y SORDERA MITOCONDRIAL DE HERENCIA MATERNA – Paula Iniesta del Río, Pablo Serrano Lorenzo, Adrián González Quintana.....47
- 9- DOCTOR, ¿Y ESTO SE HEREDA? CUANDO LA RESPUESTA NO ES TAN SENCILLA COMO APARENTA – Rodrigo Gil Manso\*, María Sánchez Tabernero\*, Gonzalo Carreño Gómez-Tarragona.....53
- 10- HALLAZGO INCIDENTAL MEDIANTE NGS EN EL GEN FLCN ASOCIADO AL SÍNDROME DE BIRT-HOGG-DUBÉ – Julia Sanz Gómez, María del Valle Romero Real, Beatriz Hidalgo Calero.....59
- 11- INSERCIÓN DE ELEMENTO MÓVIL EN UN PACIENTE AFECTO DE PARAPRESIA ESPÁSTICA COMPLEJA TIPO SPG11 – Rubén Pérez de la Fuente, José Miguel Lezana Rosales.....63

- 12- MUTACIÓN DE NOVO EN EL GEN PMS2 EN UNA PACIENTE CON ADENOCARCINOMA DE ENDOMETRIO – Kateryna Sidak, José Manuel Sánchez Zapardiel.....67
- 13- SÍNDROME DE DEFICIENCIA CONSTITUCIONAL DE REPARACIÓN DE ERRORES DE APAREAMIENTO DEL ADN (CMMRD): A PROPÓSITO DE UN CASO – Esther Carolina Tamayo Hernández, José Manuel Sánchez Zapardiel.....71
- 14- SÍNDROME DE TRAF7: EXPERIENCIA DE 5 PACIENTES EN LA UNIDAD DE DISMORFOLOGÍA Y GENÉTICA – Emma Soengas Gonda, Carmen Palma Milla, Irene Lázaro Rodríguez.....75

#### **BLOQUE IV – FARMACOLOGÍA Y TOXICOLOGÍA.....81**

- 15- FALLO HEPÁTICO FULMINANTE POR CONSUMO DE SETAS – Ylenia Pérez Arnaiz\*, Mercedes Blanco Colomo\*, Alba María Fernández Del Pozo.....82
- 16- INTERACCIÓN FARMACOCINÉTICA GRAVE POR NIRMATRELVIR/RITONAVIR EN PACIENTE TRASPLANTADO – Jesús Cabanes Madrid, Sara Peral García, Jon Sánchez Munárriz.....87
- 17- INTOXICACIÓN POR TACRÓLIMUS EN PACIENTE PEDIÁTRICO CON COLITIS ULCEROSA CORTICORRESISTENTE – María del Valle Romero Real, Julia Sanz Gómez, Jon Sánchez Munárriz.....91
- 18- TERAPIA FETAL CON DIGOXINA. POSIBLES INTERFERENCIAS – Mónica Pascual Ramírez de Arellano, Fernando Calvo Boyero.....95

#### **BLOQUE V – GESTIÓN Y CALIDAD.....100**

- 19- ACREDITAR Y CERTIFICAR UN LABORATORIO CLÍNICO EN UN MISMO PROCESO MEDIANTE LA CREACIÓN DE UNA HERRAMIENTA. COMPARACIÓN DE LAS NORMAS ISO 9001: 2015 E ISO 15189:2012 – Daniel Párraga García\*, Ángel Camilo López Regueiro\*, José Miguel Comino Cáceres.....101
- 20- COMPARACIÓN DE LAS NORMAS UNE-EN ISO 15189:2023 Y 2012. SIMILITUDES Y DIFERENCIAS – María del Valle Romero Real\*, Daniel Párraga García\*, Belén Ontañón Nasarre.....105

#### **BLOQUE VI – HEMATOLOGÍA.....108**

- 21- ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOINMUNE: UN DESAFÍO PARA EL LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA – Antonio García Sánchez\*, Rafael Colmenares Gil\*, Rodrigo Íñiguez García.....109
- 22- ANEMIA Y TROMBOPENIA: NO TAN TRIVIAL COMO PARECE – Rafael Colmenares Gil\*, Rodrigo Gil Manso\*, Sandra Gómez Rojas.....116
- 23- DÉFICIT GRAVE DEL FACTOR X DE LA COAGULACIÓN – Andrea Tamayo Soto, Lucía Medina de Alba, Nerea Castro Quismondo.....120

24- DÉFICIT PRECOZ DE VITAMINA K NEONATAL – Lucía Medina de Alba, Andrea Tamayo Soto, Mario Rodríguez Rodríguez.....	123
25- DETECCIÓN DE CÉLULAS ATÍPICAS EN LÍQUIDO ASCÍTICO – Mónica Pascual Ramírez de Arellano, Raquel Victoria Melgares de Aguilar, Alba Fernández del Pozo.....	129
26- DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DEL SÍNDROME DE POEMS – Laura Carrasco Parrón, María de los Ángeles Iglesias de la Puente.....	134
27- EOSINOFILIA EN FROTIS DE SANGRE PERIFÉRICA, ATIPIAS MORFOLÓGICAS DE DUDOSA CONSIDERACIÓN – Esther Parra Virto, Reyes Mas Rubio, Sandra Gómez Rojas.....	138
28- ERITROCITOSIS CONGÉNITA: A PROPÓSITO DE UN CASO – Rodrigo Gil Manso, Gonzalo Carreño Gómez-Tarragona.....	143
29- HIPERLEUCOCITOSIS EN UN NEONATO CON SÍNDROME DE DOWN POR UNA CAUSA NO TAN INFRECUENTE – Alberto Blanco Sánchez*, Miguel Navarro Sánchez*, Gloria Pérez Segura.....	148
30- IMPORTANCIA DEL FROTIS DE SANGRE PERIFÉRICA EN LA NEUTROPENIA – Guillermo Ramos Moreno*, Reyes Mas Babío*, Sandra Gómez Rojas.....	152
31- NEOPLASIA DE CÉLULAS DENDRÍTICAS PLASMOCITOIDES BLÁSTICAS – Daniel Gil Alós, María Sánchez Tabernero, Irene Zamanillo Herreros.....	157
32- SÍNDROME HEMOFAGOCÍTICO SECUNDARIO A INFECCIÓN POR VIRUS EPSTEIN-BARR – Maialen Palomino Alonso*, Guillermo Ramos Moreno*, Sandra Gómez Rojas.....	162

## **BLOQUE VII – MICROBIOLOGÍA Y ENFERMEDADES INFECCIOSAS.....168**

33- IDENTIFICACIÓN DE UN CASO DE MIASIS POR Cordylobia Anthropophaga EN EL LABORATORIO – Alba Fernández del Pozo, Cecilia Cueto-Felgueroso Ojeda.....	169
---	-----

## **BLOQUE VIII – MISCELÁNEA.....174**

34- ANÁLISIS BIOQUÍMICO Y TRATAMIENTO EN PACIENTE CON HIPERTRIGLICERIDEMIA – María Concepción Burgos Ballester, Mónica Pascual Ramírez de Arellano, Fernando Calvo Boyero.....	175
35- DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DE LAS HIPERCALCEMIAS – Ylenia Pérez Arnaiz, Fernando Calvo Boyero.....	180

## **BLOQUE IX – NEFROLOGÍA .....185**

36- ACIDOSIS METABÓLICA CON GAP OSMOLAR ELEVADO – Jesús Cabanes Madrid*, Raquel Victoria Melgares de Aguilar Marco*, Ilenia Liria González.....	186
---	-----

37- SÍNDROME HEMOLÍTICO URÉMICO ATÍPICO – Mercedes Blanco Colomo, Mónica Pascual Ramírez de Arellano, Belén Ontañón Nasarre.....	189
38- SÍNDROME NEFRÓTICO EN FORMA DE CUERPOS OVALES GRASOS EN ORINA – Maialen Palomino Alonso, Alba María Fernández del Pozo.....	195

**BLOQUE X – PEDIATRÍA.....201**

39- HIPERFOSFATASEMIA TRANSITORIA BENIGNA DE LA INFANCIA: HALLAZGO A TENER EN CUENTA EN PEDIATRÍA – Jesús Cabanes Madrid, Cecilia Cueto-Felgueroso Ojeda.....	202
---	-----

\*Ambos autores han participado de forma equitativa en la redacción del texto

# BLOQUE I

---

# ENDOCRINO

# 1- ACROMEGALIA: PAPEL ESENCIAL DEL LABORATORIO CLÍNICO EN EL DIAGNÓSTICO PRECOZ Y ELECCIÓN DEL TRATAMIENTO

**Autor:** Ilenia Liria González, Silvia Díaz Díaz, Adrián González Quintana.

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

**Palabras clave:** Acromegalia, RMN, GH, IGF-I.

## 1. INTRODUCCIÓN

La acromegalia es una enfermedad endocrina rara que se instaura de manera insidiosa y progresiva, lo que favorece el retraso en el diagnóstico. Se origina por una producción excesiva de hormona del crecimiento (GH) causada por un tumor hipofisario en la mayoría de los casos (aproximadamente en un 95%). Algunos de estos tumores (25% de casos) también secretan prolactina, debido a la compresión del tallo hipofisario o por cosecreción de la misma por parte del tumor. El resto de casos de acromegalia se debe a un tumor ectópico productor de GH o de hormona liberadora de hormona de crecimiento (GHRH). La mayoría de los casos son esporádicos, aunque algunas veces el cuadro puede formar parte de un síndrome genético o enfermedad familiar.

La acromegalia es una enfermedad sistémica progresivamente deformante. Las manifestaciones clínicas pueden deberse tanto a los efectos locales producidos por la compresión tumoral como a los ocasionados por el exceso de GH y factor de crecimiento insulínico tipo I (IGF-I). Los signos y síntomas más habituales de los pacientes con acromegalia son los siguientes:

- Cambios en la apariencia física debido al crecimiento de los tejidos blandos:
  - Agrandamiento de las manos y pies.
  - Alteración de los rasgos faciales por agrandamiento de la nariz, mandíbula, lengua, labios y frente.
- Aumento del grosor de la piel e hipersudoración.
- Hipertensión arterial, elevación del colesterol y aparición de diabetes mellitus.
- Aumento del tamaño de distintos órganos como el corazón, hígado, bazo o riñón.
- Alteraciones del eje gonadal con disminución de la libido, disfunción eréctil y alteraciones del ciclo menstrual.
- Dolor de cabeza y alteraciones visuales.

El diagnóstico de la acromegalia se realiza mediante pruebas de laboratorio, pruebas de imagen y si procede estudio genético.

El diagnóstico bioquímico se basa en la determinación del IGF-I basal y en la valoración de la capacidad de supresión de la hormona del crecimiento (GH) tras sobrecarga oral de glucosa (SOG) con 75 g. Un valor de IGF-I elevado (para el

rango de referencia por edad y sexo) y la falta de supresión de GH tras SOG, confirman el diagnóstico.

Una vez realizado el diagnóstico bioquímico es necesario realizar una resonancia magnética nuclear (RMN) del área hipofisaria para evaluar las características del tumor y su relación con las estructuras vecinas.

Finalmente, se realizará el diagnóstico genético en aquellos pacientes jóvenes o en aquellos en los que la acromegalia parezca formar parte de un síndrome familiar.

## 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

### 2.1. Motivo de consulta

Mujer de 47 años en estudio por Neurología por sospecha de radiculopatía L5 izquierda. Refiere fallos de memoria y dolores lumbares frecuentes. La paciente cuenta que desde la infancia ha tenido menor movilidad en el lado izquierdo del cuerpo, principalmente en la mano izquierda, relacionado con un infarto cerebral arterial neonatal (ICAN). Por este motivo, se solicita una RMN craneal y lumbar.

### 2.2. Antecedentes personales

- Hipertensión arterial.
- Dislipemia en tratamiento dietético.
- Diabetes mellitus tipo 2 en tratamiento con antidiabéticos orales.
- Cefalea ocasional que cede con analgesia.
- Hepatitis C en seguimiento por Digestivo.
- Insuficiencia venosa crónica en las extremidades inferiores.
- Trastorno adaptativo con ánimo depresivo en seguimiento por Psiquiatría.

### 2.3. Antecedentes familiares

La paciente es adoptada por lo que desconoce sus antecedentes familiares.

### 2.4. Exploración física

Consciente y globalmente orientada. Colaboradora con lenguaje fluido y coherente. No se observan elementos disfásicos ni disartria. Presenta marcha normal.

## 2.5. Enfermedad actual

En la RMN craneal se observa de manera incidental un ligero aumento de volumen de la glándula hipofisaria por lo que la paciente es derivada al Servicio de Endocrinología para su estudio completo.

## 3. INFORME DE LABORATORIO

En la primera visita al servicio de Endocrinología se solicita una RMN hipofisaria y un estudio hormonal completo.

Los resultados del estudio hormonal se recogen en la siguiente tabla.

Determinación	Resultado	Intervalo de referencia
TSH	1,25	[0,40 – 4,50] $\mu\text{UI}/\text{mL}$
FSH	6,92	FF: 3,5-12,5 FL: 1,7-7,7 M: 26-135 UI/L
LH	10,60	FF: 2,4-12,6 FL: 1,0-11,4 M: 7,7-59 UI/L
Cortisol	13,10	[6 – 18] $\mu\text{g}/\text{dL}$
Prolactina	16,90	[ 4,8 – 23,3] $\text{ng}/\text{mL}$
IGF-I	555,4	[109,0 – 296,0] $\text{ng}/\text{mL}$

**Tabla 1.** Estudio hormonal inicial solicitado por el servicio de Endocrinología. (FL: fase lútea; FF: fase folicular; M: menopausia).

En la RMN se observa una tumoración hipocaptante de 1x1.5 cm en la región central e inferior de la adenohipofisis sugestiva de macroadenoma, sin invasión de los senos cavernosos ni compresión del quiasma óptico.

## 4. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

Ante los resultados obtenidos en la RMN y la elevación de IGF-I se solicita nuevamente la determinación para confirmación del resultado obtenido.

Determinación	Resultado	Intervalo de referencia
GH	5,35	[0,00 – 8,00] $\text{ng}/\text{mL}$
IGF-I	542,6	[109,0 – 296,0] $\text{ng}/\text{mL}$

**Tabla 2.** Confirmación de IGF-I y solicitud de hormona del crecimiento.

Ante la elevada sospecha de acromegalia se solicita el test de SOG de 75g.

## 5. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

La SOG es la prueba considerada como *gold standard* para el diagnóstico de acromegalia. Esta prueba se fundamenta en la inhibición de la secreción de GH por la hiperglucemia. De esta forma, aquellos pacientes con un adenoma hipofisario secretor de GH no tendrán una supresión de la secreción de dicha hormona.

Tiempo	GH $\text{ng}/\text{mL}$	Glucosa $\text{mg}/\text{dL}$
Basal	8,39	92
30 minutos	6,59	124
60 minutos	5,66	203
90 minutos	4,93	203
120 minutos	4,81	155

**Tabla 3.** Resultados de la SOG.

Tras la SOG, se considera que valores de GH inferiores a 0,4  $\text{ng}/\text{mL}$  descartan la acromegalia. Siguiendo este criterio, se confirma el diagnóstico de acromegalia en nuestro paciente, puesto que ninguna de las determinaciones de GH es inferior al punto de corte indicado.

## 6. EVOLUCIÓN

Con los resultados del estudio se decide presentar el caso en el Comité de Patología Hipofisaria con el fin de determinar cuál será el tratamiento a seguir.

En el Comité se decide realizar un test agudo de octreótide (TAO). Este test se realiza para determinar si el paciente es respondedor, respondedor parcial o no respondedor a la administración de análogos de somatostatina. Consiste en la inyección de octreótide (análogo de la somatostatina) y medición de los niveles de GH basal y 2 horas después del estímulo. Aquellos pacientes con niveles de GH a las 2 horas inferiores a 2.7  $\text{ng}/\text{mL}$  se consideran respondedores al TAO y, por tanto, a los análogos de somatostatina. Los resultados obtenidos en el TAO realizados a la paciente son los siguientes:

Tiempo	Determinación	Resultado ( $\text{ng}/\text{mL}$ )
Basal	GH (Octreótide)	8,27
120 min	GH (Octreótide)	1,50

**Tabla 4.** Test agudo de octreótide.

La concentración de GH inferior a 2,7 ng/mL a los 120 minutos indica que la paciente es respondedora al tratamiento con análogos de la somatostatina. Por ello, se decide iniciar tres meses de tratamiento con análogos de somatostatina y después de ese periodo reevaluar el caso de cara a la realización de una cirugía.

Tras el tratamiento con análogos de somatostatina se realiza una nueva RMN hipofisaria y un estudio hormonal que concluyen que existe progresión y por tanto se decide realizar cirugía transesfenoidal con intención curativa.

Los resultados de la Anatomía Patológica confirman un adenoma de hipófisis con positividad para GH.

En la RMN postquirúrgica se observa una resección subtotal del macroadenoma hipofisario por lo que se decide reintervención para completar la resección tumoral.

Actualmente, la paciente presenta una discreta elevación persistente de IGF-I y un foco de captación en región basal izquierda de la adenohipófisis que sugieren la presencia de un tumor residual. Por este motivo, la paciente continúa tratamiento con cabergolina y seguimiento estrecho por la Unidad de Endocrinología.

Determinación	Resultado	Intervalo de referencia
<b>Antes de la cirugía</b>		
GH	11,00	[0,00 – 8,00] ng/mL
IGF-I	884,90	[93,0 – 253,0] ng/mL
<b>Después de la cirugía</b>		
GH	5,00	[0,00 – 8,00] ng/mL
IGF-I	283,30	[93,0 – 253,0] ng/mL

**Tabla 5.** Determinaciones de GH e IGF-I realizadas antes y después de la cirugía

## 8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

Las opciones para el tratamiento de la acromegalia incluyen cirugía, tratamiento farmacológico y radioterapia. El tratamiento tiene como finalidad normalizar los niveles de GH e IGF-I, controlar la masa tumoral y disminuir el riesgo de desarrollar comorbilidades sistémicas, mejorando la calidad de vida y reduciendo la mortalidad.

El tratamiento de elección es la cirugía transesfenoidal debido a que es el método que ofrece mejores tasas de remisión, entre un 80-90% de pacientes con microadenomas y del 50% en caso de macroadenomas.

Tras la cirugía es necesario realizar un seguimiento bioquímico (6-12 semanas), radiológico (a las 12 semanas) y oftalmológico, que permita evaluar la remisión de la

enfermedad. En el análisis bioquímico podemos encontrar las siguientes situaciones:

- Remisión: Los valores de IGF-I están dentro del intervalo de referencia y la GH basal es indetectable.
- Enfermedad controlada: Los valores de IGF-I están dentro del intervalo de referencia, pero la GH aleatoria o tras SOG es < 1 ng/mL.
- Persistencia de enfermedad: Los valores de IGF-I se mantienen elevados.

La terapia médica tiene un papel fundamental como tratamiento de primera línea, como alternativa a la cirugía o bien de segunda línea cuando no se consigue la remisión tras cirugía. Actualmente, están comercializados tres grupos de fármacos para el tratamiento de la acromegalia:

- Análogos de somatostatina (ASS) de primera generación como lanreotida y octreotida o de segunda generación como la pasireotida.
- Agonistas dopaminérgicos como la cabergolina.
- Antagonistas periféricos de la GH como el pegvisomat.

La radioterapia se reserva para pacientes en los que no sea posible realizar cirugía, en aquellos casos en los que existe persistencia de la hipersecreción hormonal tras cirugía, y para aquellos pacientes en los que no se consiga el control con tratamiento médico.

En el caso presentado, la paciente comienza con análogos de somatostatina como tratamiento de primera línea con la finalidad de conseguir una mejoría de los síntomas, principalmente debido a que el tiempo de espera previsto hasta la cirugía sería alargado. Posteriormente, se realiza una primera cirugía en la que tras RMN se observan restos tumorales y se decide una segunda cirugía. En el seguimiento bioquímico destacan unos valores de IGF-I persistentemente elevados, lo cual indica persistencia de la enfermedad. Por este motivo, se inicia tratamiento médico con agonistas dopaminérgicos como la cabergolina.

## BIBLIOGRAFIA GENERAL

- Fleseriu M, Biller BMK, Freda PU, Gadelha MR, Giustina A, Katznelson L, Molitch ME, Samson SL, Strasburger CJ, van der Lely AJ, Melmed S. A Pituitary Society update to acromegaly management guidelines. *Pituitary*. 2021 Feb; 24 (1):1-13. doi: 10.1007/s11102-020-01091-7. Epub 2020 Oct 20. PMID: 33079318; PMCID: PMC7864830.
- Ershadinia N, Tritos NA. Diagnosis and Treatment of Acromegaly: An Update. *Mayo Clin Proc*. 2022 Feb; 97(2):333-346. doi: 10.1016/j.mayocp.2021.11.007. PMID: 35120696.
- Shlomo Melmed, MD, Laurence Katznelson, MD. *Diagnosis of Acromegaly*. Up to Date. Inc. <https://www.uptodate.com>. (Accessed on March 20,2023).

## 2- ENFERMEDAD DE CUSHING. IMPORTANCIA DEL LABORATORIO EN EL CATETERISMO DE SENOS PETROSOS INFERIORES

**Autor:** Ilenia Liria González, Silvia Díaz Díaz, Adrián González Quintana.

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

**Palabras clave:** Cushing, Senos petrosos, ACTH, prolactina.

### 1. INTRODUCCIÓN

El síndrome de Cushing es una entidad clínica producida por la exposición prolongada a glucocorticoides. El cortisol es el producto final del eje hipotálamo-hipófisis-suprarrenal y se produce en respuesta a la secreción de hormona adrenocorticotropa (ACTH) producida en la hipófisis anterior. A su vez, la liberación de ACTH es estimulada por la secreción a nivel hipotalámico de la hormona liberadora de corticotropina (CRH). La CRH se secreta siguiendo un patrón circadiano y como respuesta a estímulos fisiológicos como el estrés y la hipoglucemia. La secreción de CRH, ACTH y cortisol va a estar regulado por un mecanismo de retroalimentación negativo a nivel hipotálamo-hipofisario.

Las causas que producen el síndrome de Cushing pueden clasificarse en:

1. ACTH independientes. Los niveles de cortisol son elevados sin estimulación por la ACTH. Encontramos a su vez dos tipos:

- Síndrome de Cushing endógeno ACTH-independiente, en el que la glándula suprarrenal produce cortisol de forma autónoma sin estímulo de la ACTH debido a una hiperfunción suprarrenal.
- Síndrome de Cushing exógeno ACTH-independiente, es la causa más común de síndrome de Cushing, debida a la administración de corticoides como la prednisona o la hidrocortisona a dosis altas para el tratamiento de otras patologías. Así mismo, pacientes que sufren estrés por enfermedades, traumatismos o que se encuentran ingresados en unidades de cuidados intensivos suelen presentar niveles elevados de cortisol.

2. ACTH dependientes. En este caso, las dos fuentes de producción de ACTH pueden ser:

- Hiperfunción hipofisaria debida a un adenoma productor de ACTH.
- Producción ectópica de ACTH y/o CRH por algunos tumores de pulmón, páncreas o neuroendocrinos.

La presentación clínica de los pacientes con síndrome de Cushing puede variar de manera significativa según sexo, edad, severidad y duración de la enfermedad. El diagnóstico debe comenzar con la anamnesis y exploración del paciente.

Las manifestaciones clínicas incluyen: obesidad de tipo central, con cara de luna llena, estrías en la piel de color rojizo principalmente sobre el tórax y el abdomen, pérdida de

masa muscular, atrofia dérmica y hematomas. Es característico la debilidad de los músculos proximales con fatiga intensa, facilidad para la formación de hematomas y la osteoporosis con riesgo elevado de fracturas. Además, presentan una mayor tendencia a infecciones y a mala curación de las heridas (debido a los efectos inmunosupresores del cortisol). En mujeres, cabe destacar que debido al exceso de andrógenos podemos encontrar hirsutismo, acné y alteraciones menstruales.

El exceso de cortisol predispone a comorbilidades muy comunes en la población general, como la prediabetes o diabetes, la dislipemia y/o la hipertensión arterial resistente a tratamiento, lo que contribuye al retraso del diagnóstico.

### 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

#### 2.1 Motivo de consulta

Mujer de 60 años que acude a urgencias por edema de partes blandas en la región supraclavicular izquierda con sensación disneica asociada.

En la anamnesis dirigida, la paciente refiere astenia de unos meses de evolución y sudoración nocturna que relaciona con el inicio de la menopausia. Presenta lipodistrofia con obesidad central, estrías abdominales, giba dorsal, fascies redondeada, ligero hirsutismo, discreta debilidad proximal y osteopenia.

#### 2.2 Antecedentes personales

- Hipertensión arterial en tratamiento.
- Dislipemia.
- Fumadora de 1 paquete/día desde los 18 años.
- Osteopenia con múltiples fracturas en miembros inferiores.

#### 2.3 Antecedentes familiares

- Tía materna y prima con cáncer de mama.
- Dos tíos maternos con cáncer de pulmón.
- Abuelo materno fallecido por cáncer gástrico.
- Hermana en seguimiento por Endocrinología por engrosamiento adrenal bilateral con test de Nugent alterado, pero con cortisol urinario y ACTH normales.
- Hijo con enfermedad de Duchenne.

## 2.4 Enfermedad actual

La presencia de lipodistrofia, las estrías abdominales, y la osteopenia acompañada de la debilidad proximal hacen sospechar de un síndrome de Cushing. Por este motivo, se solicita por parte de Medicina Interna un estudio hormonal de cribado y un TC de abdomen.

En el estudio realizado se objetiva: cortisol libre en orina de 24 horas (CLU) elevado y test de Nugent patológico. En el TC de abdomen se objetiva un engrosamiento nodular de ambas suprarrenales.

Con los resultados obtenidos, se decide derivación a Endocrinología para estudio completo por posible síndrome de Cushing.

## 3. INFORME DE LABORATORIO

El primer paso para el diagnóstico del síndrome de Cushing es confirmar la presencia de hipercortisolismo y descartar otras causas, denominadas estados de pseudocushing, que podrían estar asociadas con un exceso de cortisol, como la obesidad mórbida, la depresión, el enoísmo o el embarazo.

Las pruebas de cribado o primera línea son la determinación de cortisol libre en orina de 24h, la prueba de supresión con 1 mg de dexametasona (DXM) y la medición de cortisol en saliva nocturno. El cribado bioquímico inicial se realiza mediante una de estas tres pruebas. Si el resultado obtenido es normal, se excluye el hipercortisolismo, aunque puede ser necesario volver a repetir las pruebas en pacientes con alta sospecha y que muestren progresión de los síntomas. En el caso de un resultado inicial anormal, es necesario continuar el estudio para determinar el origen del exceso de cortisol.

De manera esquemática, las fases del diagnóstico bioquímico son:

### 1. Pruebas de cribado:

- Cortisol libre en orina de 24h: Una de cada cuatro determinaciones de cortisol libre en orina es normal en los pacientes con síndrome de Cushing y en los casos con Cushing leve o episódico. Por ello, es necesario realizar más de una determinación de cortisol libre en orina para que éste tenga valor diagnóstico. En líneas generales, valores >300 µg/24h confirmarían el diagnóstico mientras que valores <100 µg/24h lo descartarían. Los valores comprendidos entre 100-300 hacen necesario repetir la prueba o recurrir a otras pruebas para establecer el diagnóstico.
- Cortisol en saliva nocturno.
- Supresión con DXM nocturna 1 mg o test de Nugent.

2. Pruebas de confirmación: repetición de la determinación de cortisol libre en orina de 24 h, además de la determinación de cortisol plasmático (basal y en algunos casos tras supresión con DXM) o salival.

3. Evaluación de la dependencia de ACTH: El objetivo es diferenciar aquellos pacientes en los que el síndrome de Cushing cursa con valores detectables o elevados

de ACTH (ACTH-dependientes) de aquellos que son ACTH independientes y, por tanto, de origen suprarrenal.

Desde la Unidad de Endocrino se solicita la determinación de cortisol libre en orina de 24h obteniendo un valor comprendido entre 100-300 µg/24h. Esto hace necesario la utilización de una segunda prueba de cribado por lo que se solicita un test de Nugent, una nueva determinación de cortisol en orina de 24h y ACTH en plasma basal. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 1:

Determinación	Resultado	Rango de referencia
Cortisol (cribado)	22,30	[6,00 – 18,00 ] µg/dL
Cortisol orina 24h (cribado)	126,60	[13 - 75] µg/24h
Cortisol (confirmación)	19,90	[6,00 – 18,00 ] µg/dL
Cortisol orina 24h (confirmación)	108,80	[13 - 75] µg/24h
Cortisol (Nugent 1 mg DXM)	9,43	[ <1,8 ] µg/dL
ACTH	18	[ 4,70 – 48,80 ] pg/mL

**Tabla1.** Pruebas de cribado y confirmación realizadas. Elaboración propia.

## 4. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

Se realiza una RMN hipofisaria en la que se detecta un nódulo de 3 mm en la región central y posterior de la hipófisis compatible con un microadenoma.

## 5. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Los valores de ACTH obtenidos entre 10 y 20 pg/ml (5- 15 pg/ml, según otros autores) requieren de la realización de pruebas funcionales para establecer la dependencia de ACTH (origen hipofisario o ectópico) o la no dependencia (origen suprarrenal).

En el caso de la paciente que exponemos se lleva a cabo la realización de dos pruebas funcionales, realizando primero el test de supresión con dexametasona a dosis altas (8 mg) y posteriormente el test de CRH. Los resultados obtenidos se exponen en las siguientes tablas (Tabla 2, 3, 4 y 5):

Determinación	Resultado
Cortisol basal	19,90 µg/dL [6,00 – 18,00 µg/dL]
Cortisol (Nugent 8 mg DXT)	3,12 µg/dL
<b>Interpretación:</b> Una disminución del cortisol post-dexametasona sérico > 50% respecto al basal es sugestiva de que la producción de ACTH es hipofisaria y no ectópica (sensibilidad 79%, especificidad 67%).	

**Tabla 2.** Test de supresión fuerte con DXT 8 mg. Elaboración propia.

Tiempo de extracción	Determinación	Resultado
Basal	ACTH Cortisol	18 pg/mL 16,30 µg/dL
15 min	ACTH Cortisol	48 pg/mL 27,11 µg/dL
30 min	ACTH Cortisol	50 pg/mL 34,20 µg/dL
60 min	ACTH Cortisol	28 pg/mL 31,50 µg/dL
90 min	ACTH Cortisol	17 pg/mL 26,60 µg/dL
120 min	ACTH Cortisol	11 pg/mL 23,30 µg/dL
<p><b>Interpretación:</b> Respuesta positiva que indica secreción de origen hipofisario (Incremento &gt;50% para ACTH y &gt;20% para Cortisol) con una especificidad del 88-93% y una sensibilidad del 91-100%.</p>		

**Tabla 3.** Resultados del test de CRH realizado para el diagnóstico diferencial del origen hipofisario/ectópico de ACTH. Elaboración propia.

Tiempo	ACTH SP	ACTH SPD	ACTH SPI	ACTH SPD/SP	ACTH SPI/SP	ACTH SPD/SPI	ACTH SPI/SPD
Basal	8,63	226,45	6,47	26,24	0,75	35	0,03
2 min	14,47	2280,00	367,90	157,57	25,43	6,20	0,16
5 min	12,71	4130,50	151,10	324,98	11,89	27,34	0,04
10 min	15,36	1420,40	219,60	92,47	14,30	6,47	0,15

**Tabla 4.** Concentración de ACTH (pg/mL) obtenida durante la realización del cateterismo basal y tras estimulación con CRH. SP: sangre periférica; SPD: seno petroso derecho; SPI: seno petroso izquierdo. Elaboración propia.

Tiempo	PRL SP	PRL SPD	PRL SPI	PRL SPD/SP	PRL SPI/SP
Basal	13,20	140,0	14,3	10,61	1,08
2 min	12,30	1029,0	705,0	83,66	57,32
5 min	12,60	868,0	283,0	68,89	22,46
10 min	13,80	255,0	194,0	18,48	14,06

**Tabla 5.** Concentración de prolactina (ng/mL) obtenida durante la realización del cateterismo basal y tras estimulación con CRH. SP: sangre periférica; SPD: seno petroso derecho; SPI: seno petroso izquierdo. Elaboración propia.

Tras los resultados obtenidos, la paciente es presentada en el Comité Multidisciplinar de Patología Hipofisaria. En él, se decide la realización de un cateterismo de senos petrosos inferiores y estimulación con CRH que permita confirmar de manera definitiva el origen hipofisario de la secreción, así como, la lateralización del mismo.

El informe emitido desde laboratorio incluye además de los resultados obtenidos, los siguientes comentarios:

- La cateterización en el lado derecho es correcta ya que el cociente PRL SPD/PRL SP es  $\geq 1.8$  en todos los puntos.
- La cateterización basal en el lado izquierdo impresiona de ser incorrecta ya que el cociente PRL SPI/PRL SP es inferior a 1.8. La cateterización es correcta tras el estímulo ya que PRL SPI/PRL SP es  $\geq 1.8$  a los 3, 5 y 10 min.
- Los gradientes ACTH Central/Periférico Derecho basal  $\geq 2$  y tras estímulo de CRH  $\geq 3$  indican que la secreción de ACTH es de origen central.
- El gradiente ACTH Central/Periférico Izquierdo basal no es valorable por lo descrito anteriormente (posible cateterización incorrecta). Tras CRH, el gradiente ACTH Central/Periférico Izquierdo  $\geq 3$  en todos los tiempos indica que la secreción de ACTH es de origen central.
- Gradiente interpetroso seno dominante:
  - ACTH 0 min SPD/SPI= 35 (No valorable por posible canalización basal incorrecta de SPI).
  - ACTH 3 min SPD/SPI= 6,20
  - ACTH 5 min SPD/SPI= 27,34
  - ACTH 10 min SPD/SPI= 6,47
- El gradiente Interpetroso  $\geq 1,4$  en todos los tiempos tras estímulo CRH indica lateralización derecha (lado seno dominante).

## 6. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Se confirma el origen central del Síndrome de Cushing ACTH dependiente con un gradiente interpetroso que sugiere lateralización derecha.

## 7. EVOLUCIÓN

Con los resultados obtenidos tras el cateterismo se realiza cirugía transfenoidal. El estudio por parte de Anatomía Patológica confirma un adenoma de hipófisis con positividad inmunohistoquímica para ACTH. La RMN realizada tras cirugía no muestra signos de recidiva tumoral.

Debido a los antecedentes familiares de cáncer se decide realizar un estudio del gen *MEN1*. El análisis genético mediante un panel de NGS (Next-Generation Sequencing), y secuenciación Sanger para analizar las regiones mal cubiertas por NGS, resultó no informativo, al no identificarse ninguna variante patogénica en los genes *MEN1*, *CDKN1B* (*p27*) y *CDC73*. Además, mediante la técnica de MLPA (*Multiplex ligation-dependent probe amplification*) se

descartó la presencia de grandes deleciones que afectasen a los genes *MEN1*, *CDKN1B* y *AIP*.

A consecuencia de la cirugía la paciente presenta diabetes insípida central postquirúrgica en tratamiento con Minurin. Actualmente se encuentra estable y con control ambulatorio.

## 8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

El síndrome de Cushing comprende el conjunto de síntomas y signos derivados de la exposición crónica a glucocorticoides. Se trata de un trastorno potencialmente letal debido a las comorbilidades que presenta entre las que podemos encontrar la hipertensión arterial, la diabetes mellitus, las enfermedades cardiovasculares o las fracturas, entre otras. El riesgo de mortalidad es de dos a cinco veces mayor en pacientes con síndrome de Cushing no tratado en comparación con la población general, especialmente en aquellos que presenten diabetes mellitus tipo 2 o hipertensión.

Diferenciar entre las causas del síndrome de Cushing es complejo, especialmente cuando los resultados analíticos y/o las pruebas funcionales arrojan resultados discordantes, o bien, cuando las pruebas de imagen no evidencian lesiones concretas. El cateterismo de los senos petrosos inferiores se considera el *gold standard* para el diagnóstico diferencial del síndrome de Cushing ACTH-dependiente, siendo útil para determinar la localización precisa del tumor. Un gradiente de ACTH central-periférico  $\geq 2$  en muestras basales o  $\geq 3$  en muestras obtenidas tras estimulación con CRH son indicativas de síndrome de Cushing ACTH dependiente (origen hipofisario, conocido como Enfermedad de Cushing). Un gradiente interpetroso  $\geq 1.4$  sugiere una localización del adenoma en el lado del seno dominante. La sensibilidad es del 96% y la especificidad del 100%. Los resultados falsos negativos (entre un 1% y un 10%) se han atribuido a anomalías en el drenaje venoso, a la presencia de senos petrosos hipoplásicos, a dificultades para lograr la cateterización, a la falta de experiencia o a problemas técnicos durante la realización del cateterismo. La corrección de los resultados obtenidos con otra hormona segregada por la hipófisis anterior aumenta la fiabilidad del diagnóstico. En este aspecto, la prolactina es la hormona seleccionada para correlacionar los resultados, ya que, al ser la hormona hipofisaria más abundante, no se modifica con el estímulo con CRH y no se altera en los casos de secreción ectópica de ACTH, como ocurre con otras hormonas hipofisarias como la TSH y GH, que sí se ven afectadas.

## BIBLIOGRAFIA GENERAL

- González A. Principios de bioquímica clínica y patología molecular. 2a ed. Barcelona: Elsevier; 2014.
- Juszczak A, Morris D, Grossman A. Cushing's Syndrome. [Updated 2021 Jan 5]. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, et al., editors. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279088/>

- Lahera Vargas M, Varela da Costa C. Prevalencia, etiología y cuadro clínico del síndrome de Cushing. *Endocrinol Nutr* [Internet] 2009;56(1):32-39. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S1575-0922\(09\)70191-3](https://doi.org/10.1016/S1575-0922(09)70191-3)
- Lonser RR, Nieman L, Oldfield EH. Cushing's disease: pathobiology, diagnosis, and management. *J Neurosurg*. 2017 Feb;126(2):404-417. Disponible en: <https://doi.org/10.3171/2016.1.JNS152119>.
- Hershel R, Carroll T. Cushing's syndrome: from physiological principles to diagnosis and clinical care. *J Physiol* [Internet] 2015; 593(3):493-506. Disponible en: <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2014.282871>
- Nieman L. Cushing's: Update on signs, symptoms and biochemical screening. *EJE* [Internet] 2015; 173: 33-38. Disponible en: [10.1530/EJE-15-0464](https://doi.org/10.1530/EJE-15-0464)
- Nieman, L. Diagnosis of Cushing's syndrome in the Modern Era. *Endocrinol. Metab. Clin. N. Am.* 2018; 47:259-273.

## 3- PARÁLISIS PERIÓDICA TIROTÓXICA HIPOPOTASÉMICA

**Autor:** Celia Amil Manjón\*, Laura Carrasco Parrón\*, Adrián González Quintana

*\*Ambos autores han colaborado de forma equitativa en la redacción del texto.*

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

**Palabras clave:** Tirotoxicosis, hipopotasemia, parestesia

### 1. INTRODUCCIÓN

La parálisis periódica (PP) es una enfermedad muscular incluida dentro de las llamadas canalopatías, que se manifiesta por episodios de debilidad muscular indolora. Los episodios pueden ser desencadenados por situaciones de estrés como ejercicio intenso, ayuno o incluso, por comidas muy ricas en carbohidratos.

La parálisis periódica puede asociarse a niveles sanguíneos de potasio tanto aumentados como disminuidos, clasificándose entonces como hiperpotasémica o hipopotasémica, respectivamente.

La mayoría de los casos de parálisis periódica son hereditarios, siguiendo un patrón de herencia autosómico dominante, pero también se han descrito formas esporádicas de PP hipopotasémica en asociación con hipertiroidismo.

### 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

#### 2.1 Motivo de consulta:

Varón de 21 años, natural de China, que acude al Servicio de Urgencias del hospital por cuadro de debilidad de predominio matutino en miembros inferiores que se vuelve invalidante 3 días antes, llegando esa misma mañana a una parálisis absoluta de miembros inferiores e hipoparesia de miembros superiores con arreflexia a la exploración.

#### 2.2 Antecedentes personales:

Como antecedentes personales de interés, destaca una pérdida de 50 kg de peso en el último año, justificada por intenso ejercicio y dieta estricta. Niega consumo de cualquier producto de herbolario o fármaco para la pérdida de peso. Niega también cualquier clínica infecciosa en los últimos meses.

#### 2.3 Antecedentes familiares:

El paciente no presenta antecedentes familiares de interés.

#### 2.4 Enfermedad actual:

El paciente presenta un cuadro de paresia predominante en miembros inferiores que comienza de forma leve y paulatina hace aproximadamente un mes. El cuadro empeora por las mañanas y mejora a lo largo del día.

#### 2.5 Exploración física:

A su llegada a urgencias, presenta temperatura de 36,3°C, tensión de 137/67 mmHg, frecuencia cardíaca de 107 latidos/min y saturación de O<sub>2</sub> del 100%.

Se encuentra consciente, taquicárdico y taquipneico, tembloroso. No se evidencia soplo mitral ni ruidos audibles.

Abdomen blando, depresible, no doloroso a la palpación, sin masas ni megalias. Tampoco presenta edemas.

A nivel neurológico, presenta pupilas isocóricas y normorreactivas. No presenta paresia facial ni alteraciones tactoalgésicas en región trigeminal, pero sí se observa paresia de miembros inferiores, simétrica e hipoparesia de miembros superiores, con arreflexia en las cuatro extremidades sin alteración aparente de la sensibilidad.

### 3. INFORME DEL LABORATORIO

Se solicita analítica con perfil hepato-renal, fósforo, magnesio y proteína C reactiva, así como sistemático y sedimento urinario, tóxicos e iones en orina.

Destaca un potasio en suero de 1,52 mEq/L [3,5-5,1], fósforo de 1,2 mg/dL [2,5-4,5] y magnesio de 1,47 mg/dL [1,6-2,6]. En cuanto a la analítica de orina, destaca un potasio de 11,9 mEq/L [20,0-80,0].

Ante estos resultados, se solicita la determinación de hormonas tiroideas, siendo la TSH <0,005 µUI/mL [0,40-4,50], T4L de 5,18 ng/mL [0,7-1,9] y T3L de 18,72 pg/mL [2,27-5,06]. Se completa el estudio del perfil tiroideo con la determinación de anticuerpos antiperoxidasa (ATPO) 385 UI/mL [5,0-34,0], anticuerpos antitiroglobulina (ATG) 51 UI/mL [10,0-115,0] y anticuerpos anti-receptor TSH (TSI) 13,0 UI/mL [0,0-1,75].

### 4. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

Se solicita radiografía de tórax, siendo todas las imágenes normales. Se realiza también un electrocardiograma, en el que se confirma la taquicardia sinusal a 100 latidos/min.

### 5. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Los resultados bioquímicos mostraron un potasio gravemente disminuido tanto en suero como en orina y una TSH completamente suprimida, con elevación de las hormonas tiroideas en sangre. Esto, unido a la determinación posterior de valores elevados de TSI y ATPO, apoyó el diagnóstico de enfermedad de Graves-Basedow como probable desencadenante del cuadro clínico.

La enfermedad de Graves es un síndrome que puede consistir en hipertiroidismo, bocio, enfermedad ocular tiroidea y, ocasionalmente, una dermatopatía denominada pretibial o mixedema localizado. El hipertiroidismo es la característica más común de la enfermedad de Graves y es causado por autoanticuerpos contra el receptor de TSH que

lo activan, estimulando así la síntesis y secreción de hormonas tiroideas.

Por tanto, en base al cuadro clínico de: hipopotasemia, parálisis grave de miembros inferiores e hipoparesia de miembros superiores, junto a los resultados de análisis de hipertiroidismo, se diagnosticó al paciente de una parálisis periódica tirotóxica hipopotasémica.

## 6. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

En primer lugar, en un ataque agudo, la parálisis periódica tirotóxica debe distinguirse de otras causas de tetraparesia aguda, como la crisis miasténica, síndrome de Guillain-Barré, parálisis por garrapatas y botulismo. En este caso, el hallazgo de hipopotasemia y la recuperación con perfusión de ClK intravenoso, apunta hacia el diagnóstico de parálisis periódica hipopotasémica.

Posteriormente, debe diferenciarse la parálisis periódica tirotóxica de otros cuadros similares, como son las parálisis periódicas hipopotasémicas familiares. La PP tirotóxica se basa fundamentalmente en la existencia de alteraciones en el perfil tiroideo y suele ser una forma esporádica.

Además, debido a que las formas familiares son causadas por mutaciones genéticas en los canales iónicos, suelen debutar a edades más tempranas, mientras que las formas tirotóxicas suelen aparecer en torno a la tercera década de la vida.

Otras causas de hipokalemia son debidas a las pérdidas renales o intestinales de potasio, como las que se producen en el síndrome de Bartter, el hiperaldosteronismo primario, la acidosis tubular renal o las gastroenteritis agudas; estas opciones quedaron descartadas al no existir alteraciones en el perfil ácido-base del paciente.

## 7. EVOLUCIÓN

En el servicio de urgencias se inició reposición intravenosa con 60 mEq de KCl, consiguiendo corrección total de hipopotasemia, con niveles de potasio superiores a 4 mEq/L en controles sucesivos, observándose mejoría clínica con normalización de la fuerza en miembros inferiores y superiores y disminución de la frecuencia cardíaca.

También se inicia tratamiento con fármacos anti-tiroideos (carbimazol) y betabloqueantes (propranolol) y se cursa el ingreso del paciente a cargo del servicio de endocrinología para el estudio, monitorización y tratamiento de la patología tiroidea.

Con la recuperación de los niveles de potasio se observó también la normalización de los niveles de fósforo y magnesio. Además, al tercer día de ingreso se realizó una nueva analítica sanguínea en la que se observó una ligera mejoría de las alteraciones en el perfil tiroideo ya detectadas previamente (Tabla 1).

Como consecuencia de la mejoría clínica y analítica, se procedió al alta hospitalaria y al seguimiento ambulatorio en consultas de endocrinología y neurología muscular.

## 8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

La parálisis periódica tirotóxica constituye una complicación poco frecuente y potencialmente grave del hipertiroidismo, que cursa de forma característica con hipopotasemia y episodios recurrentes de parálisis muscular en las extremidades inferiores, principalmente a nivel proximal.

Suele presentarse con mayor frecuencia en la población asiática. En Asia, la incidencia de PP tirotóxica en pacientes con hipertiroidismo es de aproximadamente el 2%, en contraste con otras poblaciones, en las que se estima que la incidencia es de 0,1-0,2%. Generalmente se manifiesta en

	Petición Urgencias	Petición a las 6 horas	Petición a las 72 horas	Rango de referencia
Potasio (mEq/L)	1,52*	4,54	4,25	3,5-5,1
Fósforo (mg/dL)	1,2*	3,9		2,5-4,5
Magnesio (mg/dL)	1,47*	1,68		1,6-2,6
Creatin cinasa (CK) (U/L)	147			34-171
TSH (μUI/mL)	<0,005*	<0,005*	0,01*	0,40-4,50
T3L (pg/mL)	18,72*	13,58*	10,97*	2,27-5,06
T4L (ng/mL)	5,18*	5,67*	3,78*	0,7-1,9
ATPO (UI/mL)		385*		5,0-34,0
ATG (UI/mL)		51		10,0-115,0
TSI (UI/mL)		13*		0,0-1,75

Tabla 1. Parámetros bioquímicos en suero en las primeras horas de evolución.

\*Valores fuera del rango de referencia.

torno a la tercera década de vida y afecta llamativamente a los varones, con una razón de sexos de 70:1.

La PP tirotóxica se produce como consecuencia del desequilibrio electrolítico y la hipopotasemia generadas por una entrada excesiva de potasio al interior de las células.

El mecanismo por el cual se producen los episodios de parálisis parece estar relacionado con una actividad excesiva de la bomba Na/K de la membrana celular de las fibras musculares. Este transportador celular es el encargado de mantener la homeostasia iónica en las células, expulsando tres iones de sodio e introduciendo dos de potasio al interior de la célula.

En algunos pacientes hipertiroideos, parece haber una susceptibilidad genética a la hiperactivación de esta bomba Na/K como consecuencia del estado tirotóxico, de forma que se produce la entrada masiva de potasio a las células causando una hipopotasemia y un desequilibrio iónico en las células musculares que explica la situación de parálisis flácida.

Por este motivo, cualquier estímulo que favorezca, junto con las hormonas tiroideas, la activación de la bomba Na/K, como puede ser el estrés, los fármacos beta agonistas, el ejercicio físico o la insulina (tras la ingesta de hidratos de carbono), puede desencadenar un episodio de parálisis hipopotasémica en estos pacientes.

El cuadro clínico cursa de forma característica con una parálisis flácida que afecta a la musculatura proximal de los miembros inferiores, y que en función de la gravedad del episodio puede extenderse también a las extremidades superiores, requiriendo en muchas ocasiones el ingreso de los pacientes en unidades de cuidados intensivos para su manejo. Se trata de una afectación grave, pues las manifestaciones clínicas son proporcionales al grado y la velocidad de instauración de la hipopotasemia, por lo que de forma empírica se ha centrado el abordaje terapéutico en la administración de potasio con el objetivo de acelerar la resolución del episodio y prevenir la aparición de complicaciones cardiovasculares como arritmias y alteraciones a nivel de la conducción cardíaca.

El manejo terapéutico a corto plazo se basa en la reposición de los niveles de potasio. Para ello se emplea la administración de KCl intravenoso en perfusión y también la administración de fármacos beta-bloqueantes no selectivos

(como es el caso del propranolol), que contrarrestan el estímulo adrenérgico de la bomba Na/K y favorecen la salida del potasio retenido a nivel intracelular.

Aun así, la administración intravenosa de KCl debe realizarse con precaución, ya que puede derivar en una hiperpotasemia de rebote una vez se equilibren los niveles de potasio procedentes del espacio intracelular.

Además, será necesario restablecer la función tiroidea a valores normales, mediante la administración de fármacos antitiroideos como el metimazol o el carbimazol.

La restauración del eutiroidismo elimina los ataques de PP tirotóxica, la electromiografía se normaliza y los ataques no son inducibles. Como tratamiento preventivo, la administración de beta-bloqueantes como propranolol, de 40 a 210 mg al día, con o sin suplementos de potasio, parece disminuir la frecuencia y gravedad de los ataques hasta que el paciente pase a un estado eutiroides.

#### BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Lin SH. Thyrotoxic periodic paralysis. Vol. 80, Mayo Clinic Proceedings. 2005. p. 99–105.
- Fuertes Zamorano N, Marcuello Foncillas C, De Miguel Novoa MP, Sampedro Andrada A, García Cobos R, Díaz Pérez JÁ. Parálisis periódica tirotóxica como forma de presentación de hipertiroidismo primario autoinmunitario. Utilidad del bloqueo betaadrenérgico no selectivo. *Endocrinología y Nutrición* 2009;56(6): 348-351
- Iqbal QZ, Niazi M, Zia Z, Sattar SBA. A Literature Review on Thyrotoxic Periodic Paralysis. *Cureus*. 2020 Aug 29;12(8):e10108.
- Mombiedro-Segarra J, Moreno-Toledano AM, Siles-Rojas A, García-Sánchez J, Maimir-Jane F, Sánchez-Mata P. A propósito de un caso: Parálisis Periódica Tirotóxica. 2021, vol.77, n.3.
- Davies TF, Ando T, Lin RY, et al. Thyrotropin receptor-associated diseases: from adenomata to Graves disease. *J Clin Invest* 2005; 115:1972.
- Lytton SD, Kahaly GJ. Bioassays for TSH-receptor autoantibodies: an update. *Autoimmun Rev* 2010; 10:116.

# 4- TRATAMIENTO DE LA OBESIDAD CON AGONISTAS DE GLP-1 Y ELEVACIÓN DE LA CALCITONINA EN PRESENCIA DE NÓDULOS TIROIDEOS

**Autor:** José Miguel Comino Cáceres, Daniel Párraga García, Belén Ontañón Nasarre

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

**Palabras clave:** Calcitonina, cáncer medular de tiroides, liraglutida, nódulos tiroideos.

## 1. INTRODUCCIÓN

Los péptidos incretínicos (péptido similar al glucagón 1 [GLP-1] y polipéptido insulínico dependiente de glucosa, también llamado polipéptido inhibidor gástrico [GIP]) son péptidos gastrointestinales que estimulan la secreción de insulina dependiente de glucosa.

El GLP-1 también inhibe la liberación de glucagón y el vaciamiento gástrico. Los agonistas del receptor GLP-1 se unen al receptor GLP-1 y estimulan la liberación de insulina dependiente de glucosa de los islotes pancreáticos.

Los agonistas del receptor GLP-1 fueron aprobados inicialmente para el tratamiento de la diabetes tipo 2. Uno de los mecanismos por los cuales los agonistas del receptor GLP-1 mejoran la glucemia en la diabetes se debe a su capacidad para inducir la pérdida de peso.

Un agonista del receptor GLP-1 que ha sido aprobado para el tratamiento de la obesidad, con o sin diabetes mellitus, es Liraglutida. Ha demostrado conseguir pérdida de peso comparado con placebo y con orlistat.

Entre los efectos adversos descritos más comunes de Liraglutida se encuentran náuseas y vómitos; menos frecuentemente diarrea, anorexia e hipoglucemia. Los efectos adversos más graves ocurren raramente y son: pancreatitis, cólico biliar y disfunción renal.

Se ha descrito una asociación de la Liraglutida con la aparición de tumores benignos y malignos, relacionados con las células C del tiroides en roedores, pero no hay evidencia de estos tumores en humanos. Aunque tiempo después de la aprobación del fármaco se actualizó la ficha técnica recomendando no administrar Liraglutida (y los otros agonistas de GLP-1) a los pacientes con historia familiar o personal de cáncer medular de tiroides o neoplasia endocrina múltiple (MEN2A o MEN 2B).

Los nódulos tiroideos son bultos sólidos o llenos de líquido que se forman dentro de la glándula tiroides. La mayoría de los nódulos tiroideos no son graves y no presentan síntomas. Sólo un pequeño porcentaje de los nódulos tiroideos pueden ser malignos.

Los nódulos tiroideos generalmente pasan desapercibidos por el paciente a no ser que sean de gran tamaño y se hagan visibles o produzcan algún síntoma como dificultad en la deglución o en la respiración.

La evaluación de los nódulos tiroideos se basa en la anamnesis, en datos de laboratorio como hormonas tiroideas

y marcadores tumorales como tiroglobulina o calcitonina y sobre todo por pruebas de imagen como la ecografía tiroidea con o sin punción de aguja fina (PAF) y estudio anatomopatológico.

La calcitonina es una hormona, secretada por las células C del tiroides, que interviene en la homeostasis del calcio entre otras funciones. Analíticamente es considerada un marcador tumoral específico para el carcinoma medular de tiroides.

El carcinoma medular de tiroides es un tipo histológico de cáncer de tiroides que presenta peor pronóstico que los cánceres de tiroides más habituales que serían el cáncer papilar o el cáncer folicular.

## 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

### 2.1 Motivo de consulta:

Se trata de un varón de 47 años que acude a la consulta de Endocrinología por obesidad.

### 2.2 Antecedentes personales:

Entre los antecedentes personales, destacan:

- Apnea del sueño obstructiva. Diagnosticado hace un año.
- Hernias discales y protrusiones en la columna lumbar.
- Cirugías previas. Hemorroides y fístula perianal hace 20 años.

### 2.3 Antecedentes familiares:

- Padre: Carcinoma de próstata. Fallecido a los 70 años por Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica.
- Madre: 72 años. En tratamiento por Hipertensión arterial e hipercolesterolemia

### 2.4 Enfermedad actual:

Refiere obesidad progresiva desde los 20 años. Ha hecho dos dietas. Peso máximo perdido 14kg. Peso mínimo pesado 93kg. Peso máximo el actual, 110 Kg. No atracones. No vómitos. No realiza ejercicio físico actualmente. Trabaja en el laboratorio del hospital.

### 2.5 Exploración física.

- PESO: 110,3 Kg.
- TALLA: 174 cm
- IMC:36,7 Kg/m<sup>2</sup>

- TA: 121/80mmHg
- No hábito cushingoide. No estrías rojo vinosas. No hematomas. No acantosis nigricans.
- Cuello: Bocio Ia/III de localización baja. Se palpa con la deglución. Consistencia abollonada. Dudoso nódulo de 1,5cm en unión del lóbulo tiroideo izquierdo con el istmo. Se desplaza con la deglución. No doloroso a la palpación. No adenopatías loco-regionales.

### 3. INFORME DEL LABORATORIO

#### En la primera consulta

- Hb Glicada (DCCT) 5,4 (%Hbtotal) %. Próximo al límite de la prediabetes.
- TSH 1,23 µIU/ml, T4 libre 1,48 ng/dl. Eutiroideo.
- Perfil lipídico. Sin alteraciones relevantes.
- PSA 1,01 ng/ml. Sin alteraciones.
- Bioquímica general sin alteraciones.
- Ferritina 579 ng/ml, Hierro 108 µg/dl, Transferrina 285 mg/dl, TIBC 402 µg/dl, % Saturación Transferrina 26,9 %. Hiperferritinemia sin filiar. Detectada hace 10 años.

Los niveles se han mantenido sin variaciones significativas. Se descartaron mutaciones causantes de hemocromatosis.

- Hemograma sin alteraciones.

Para el control del tratamiento y considerando el hallazgo del nódulo tiroideo en la exploración física se realiza una petición de analítica para 6 meses después y una ecografía tiroidea.

#### Tras seis meses desde el inicio del tratamiento con liraglutida:

- Calcitonina 76,40 pg/ml (VR 0 – 8,40) Analizador Inmulite. Se desconoce el valor de calcitonina previa al tratamiento.
- Tiroglobulina normal.
- Anticuerpos antitiroideos negativos.
- Hb Glicada. (DCCT) 5,3 (%Hbtotal) %. Ligera mejoría. El paciente ha perdido 12 kg.
- Resto de la analítica sin cambios significativos

En la Tabla 1 se muestra el evolutivo de los datos más relevantes de seguimiento analítico de la calcitonina.

Fecha	Calcitonina pg/mL	Analizador	Observaciones
22/03/2022	76,4 (VR 0-8,4)	INMULITE	Primera determinación. Tras seis meses de tratamiento con liraglutida
19/04/2022	45,3	INMULITE	Cuatro semanas tras retirada de la liraglutida
05/05/2022	39,8	LIASON	Nueva técnica. Seis semanas tras retirada de liraglutida
19/05/2022	55	LIASON	Dos meses tras retirada de liraglutida. Valor discordante, ha subido mucho en poco tiempo sin relación con sospecha clínica.
26/05/2022	32,7	LIASON	Repetición por valor previo discordante
6/07/2022	30,8	LIASON	Dos semanas tras cirugía (istmectomía)
01/02/2023	50,3	LIASON	Revisión 10 meses tras cirugía

Tabla 1. Evolutivo del seguimiento de análisis de la calcitonina. Elaboración propia.

### 4. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

**Ecografía tiroidea:** Ante la detección de al menos un nódulo en la exploración física se solicita estudio ecográfico que se realiza pocos días después del inicio del tratamiento con liraglutida. En el informe destaca lo siguiente:

- Glándula tiroidea aumentada de tamaño.
- El parénquima glandular es de ecogenicidad heterogénea e hipoecogénico de forma difusa, hallazgos que sugieren tiroiditis crónica.
- Se identifica un nódulo único en el istmo, mixto con predominio del componente sólido, de bordes lisos y con escasa vascularización interna (14 mm). TIRADS 3.
- No se identifican adenopatías sospechosas.

#### Primera ecografía tiroidea con punción de aguja fina (PAF):

Ante el valor elevado de Calcitonina. Se plantea punción del nódulo. Aunque según la estratificación TIRADS realizada en ecografía previa no hay indicación de punción. Bajo control ecográfico se realiza punción de nódulo de 14 mm en istmo tiroideo, que protruye de la superficie anterior del lóbulo, de baja sospecha ecográfica.

#### Estudio anatómico-patológico de la primera PAF.

Abundante coloide con frecuentes hemosiderófagos y moderada celularidad epitelial folicular, dispuesta en agregados laxos, placas monocapa y células sueltas. Existe anisonucleosis y cambios atribuibles a pared de quiste. No se observa atipia citológica relevante. Ausencia de expresión de calcitonina en las células epiteliales foliculares

#### Segunda ecografía tiroidea con punción de aguja fina

A pesar de tener una citología negativa y haber suspendido dos meses antes el tratamiento con liraglutida, el valor de la



caso en particular se trataba de un falso positivo.

## 7. EVOLUCIÓN

En la actualidad y tras la realización de la istmectomía, el paciente permanece eutiroideo 9 meses después de la cirugía. Sin embargo, persiste la calcitonina elevada por lo que se puede interpretar que ni en el nódulo retirado ni en todo el istmo tiroideo estaba la causa de la elevación.

Afortunadamente la retirada del istmo no ha supuesto al paciente una pérdida de función tiroidea ni paratiroidea. El haber descartado que dicho nódulo era maligno también es una noticia positiva, pero es posible que esto no compense todo a lo que el paciente se ha sometido antes, durante y después de la cirugía.

El paciente sigue en seguimiento por endocrinología por nódulos tiroideos. Ecográficamente se han detectado nuevos nódulos, que al ser pequeños no tienen indicación de punción. La calcitonina sigue alta pero este parámetro no va a ser tomado en cuenta por el momento para la toma de decisiones relacionadas con la punción.

Utilizar los niveles de calcitonina como seguimiento podría ser de utilidad, pero al no existir ningún consenso ni recomendaciones específicas puede convertirse en un elemento que genere un factor de confusión a la hora de tomar decisiones terapéuticas.

## 8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

Determinar de forma rutinaria la calcitonina sérica en pacientes con nódulos tiroideos es controvertido. Existen algunos países donde se realiza como prueba confirmatoria el test de estimulación con pentagastrina, pero en España no es habitual su uso ya que el fármaco no está autorizado y sólo se puede adquirir como medicamento extranjero. Se puede sustituir por gluconato cálcico intravenoso, pero con menor nivel de evidencia. No existe ninguna recomendación por parte de ninguna sociedad científica ni a favor ni en contra de la detección rutinaria de calcitonina, pero la determinación de calcitonina sin prueba confirmatoria parece tener menor consenso.

Sin embargo, existen algunos informes que sugieren que la calcitonina sérica debe medirse de forma rutinaria en pacientes con enfermedad tiroidea nodular porque ayudan a identificar a aquellos que tienen cáncer medular de tiroides (CMT) en una etapa más temprana y por lo tanto se podría mejorar su supervivencia.

Las limitaciones que se han puesto de manifiesto con la determinación de la calcitonina son: la ausencia de umbrales de calcitonina uniformes para distinguir el CMT oculto y esporádico, la alta tasa de falsos positivos (59 por ciento o más) en algunos estudios y la incertidumbre ante calcitonina alta en nódulos pequeños.

Los datos sobre la utilidad de la medición rutinaria de calcitonina sérica en pacientes con enfermedad tiroidea nodular provienen en gran parte de estudios prospectivos de cohortes. En varios informes, la calcitonina sérica basal aumentó en 0,5 a 5 por ciento de los pacientes con nódulos

tiroideos. En un estudio de 1167 pacientes franceses con enfermedad tiroidea nodular, la prevalencia de MTC en pacientes con niveles de calcitonina basal elevados versus calcitonina normales fue 41,1 y 0,17 por ciento.

Las causas de falsos positivos de la prueba de la calcitonina pueden ocurrir con hipercalcemia, hipergastrinemia, tumores neuroendocrinos, insuficiencia renal, carcinoma folicular de tiroides, bocio y tiroiditis autoinmune crónica. Algunos fármacos han sido relacionados con la elevación de calcitonina: omeprazol, beta bloqueantes y glucocorticoides.

## BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Bjerre Knudsen L, Madsen LW, Andersen S, et al. Glucagon-like Peptide-1 receptor agonists activate rodent thyroid C-cells causing calcitonin release and C-cell proliferation [published correction appears in *Endocrinology*. 2012;153(2):1000. Moerch, Ulrik [added]]. *Endocrinology*. 2010;151(4):1473-1486. doi:10.1210/en.2009-1272 [PubMed [20203154](#)]
- Costante G, Meringolo D, Durante C, Bianchi D, Nocera M, Tumino S, Crocetti U, Attard M, Maranghi M, Torlontano M, Filetti S. Predictive value of serum calcitonin levels for preoperative diagnosis of medullary thyroid carcinoma in a cohort of 5817 consecutive patients with thyroid nodules. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(2):450. Epub 2006 Nov 21..
- Rink T, Truong PN, Schroth HJ, Diener J, Zimny M, Grünwald F Calculation and validation of a plasma calcitonin limit for early detection of medullary thyroid carcinoma in nodular thyroid disease. *Thyroid*. 2009;19(4):327.
- Toledo SP, Lourenço DM Jr, Santos MA, Tavares MR, Toledo RA, Correia-Deur JE. Hypercalcitoninemia is not pathognomonic of medullary thyroid carcinoma. *Clinics (Sao Paulo)*. 2009;64(7):699
- FICHA TÉCNICA SAXENDA 6 MG/ML SOLUCION INYECTABLE EN PLMA PRECARGADA [https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/115992003/FT\\_115992003.html#4-datos-cl-nicos](https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/115992003/FT_115992003.html#4-datos-cl-nicos)
- Burch HB, Burman KD, Cooper DS, Hennessey JV, Vietor NO. A 2015 Survey of Clinical Practice Patterns in the Management of Thyroid Nodules. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016;101(7):2853. Epub 2016 Mar 25.
- Middleton WD, Teefey SA, Reading CC, et al. Multiinstitutional analysis of thyroid nodule risk stratification using the American College of Radiology Thyroid Imaging Reporting and Data System. *AJR AM J Roentgenol* 2017; 208:1331.
- Haugen BR, Alexander EK, Bible KC, Doherty GM, Mandel SJ, Nikiforov YE, et al. 2015 American Thyroid Association Management Guidelines for Adult Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer: The American Thyroid Association Guidelines Task Force on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer. *Thyroid*. 2016;26(1):1-133.

## **BLOQUE II**

---

# **ENFERMEDADES AUTOINMUNES**

# 5- CUADRO CONFUSIONAL POR ENCEFALITIS INMUNOMEDIADA, UN DIAGNÓSTICO COMPLEJO

**Autores:** Maialen Palomino Alonso\*; Ángel Camilo López Regueiro\*; Cecilia Cueto-Felgueroso Ojeda.

*\*Ambos autores han colaborado de forma equitativa en la redacción del texto.*

**Palabras clave:** LCR, mononucleares, meningoencefalitis inmunomediada.

## 1. INTRODUCCIÓN

El estudio de líquido cefalorraquídeo (LCR) es de gran utilidad en el diagnóstico de enfermedades infecciosas, neurológicas y oncológicas entre otras. La posibilidad de combinar estudios bioquímicos, inmunoquímicos, citológicos o microbiológicos permiten llevar a cabo una correcta valoración las diferentes situaciones clínicas.

La identificación y detección de anticuerpos es muy útil en la valoración de enfermedades autoinmunes, contribuyendo en el diagnóstico y posible tratamiento. Entre dichas enfermedades autoinmunes se encuentran la meningoencefalitis inmunomediada, que se corresponde con una inflamación del tejido cerebral y meníngeo asociada a disfunción neurológica. Esta patología es causada por factores inmunológicos como anticuerpos o bien inmunidad celular contra antígenos presentes en el parénquima cerebral. Sus características clínicas varían en función del tipo de anticuerpo antineuronal involucrado, aunque en general tienden a tener un perfil temporal de presentación subaguda, con alteraciones conductuales, cognitivas y/o crisis epilépticas. Dentro de las alteraciones de la conducta son frecuentes los síntomas de ansiedad, cambios de ánimo y síntomas psicóticos; mientras que dentro de las alteraciones cognitivas suele haber focalidad, que varía según cuáles sean las áreas del cerebro afectadas, predominando la inatención y la disfunción ejecutiva.

Para el correcto diagnóstico de la meningoencefalitis inmunomediada se debe realizar un electroencefalograma (EEG) y un análisis de LCR con estudio de celularidad, proteinorraquia, glucorraquia y búsqueda de los agentes infecciosos más frecuentes. Además, la identificación de anticuerpos antineuronales específicos aporta certeza diagnóstica cuando son positivos y están asociados a un cuadro clínico compatible, permitiendo iniciar un tratamiento más específico, mejorando el pronóstico a largo plazo. Se recomienda medir los anticuerpos en LCR y suero para evitar falsos positivos y falsos negativos.

El tratamiento de primera línea frente a la meningoencefalitis autoinmune incluye la extracción de tumor si estuviese presente y la administración de corticosteroides, inmunoglobulinas y/o plasmaféresis.

## 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

### 2.1 Motivo de consulta:

Desorientación.

### 2.2 Antecedentes personales:

Paciente varón de 69 años, ex fumador y con antecedentes personales de:

- Obesidad, hipertensión arterial y dislipemia (hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia)
- Diabetes mellitus tipo 2 con complicaciones micro y macrovasculares en forma de nefropatía, neuropatía periférica sensitivo-motora y vasculopatía periférica
- Síndrome de apnea obstructiva del sueño
- Bloqueo completo de la rama derecha sin cardiopatía estructural
- Esteatosis hepática
- Artrosis generalizada

### 2.3 Antecedentes familiares:

No presenta antecedentes familiares de interés, salvo hermana con cáncer de mama y padre fallecido por cáncer de próstata.

### 2.4 Enfermedad actual:

El paciente es trasladado a Urgencias por un cuadro de confusión y desorientación de 24 horas de evolución.

Debido a la difícil comunicación con el paciente, es el hijo quien realiza su anamnesis. Refiere que el paciente se ha despertado mucho antes de lo habitual y ha comenzado con comportamientos extraños (pone el volumen de la televisión muy alto). Comenta que a lo largo del día ha sufrido un empeoramiento del cuadro confusional continuando con comportamientos no habituales (se prepara erróneamente la pluma de insulina y hace el gesto de bebérsela, no recuerda qué ha comido, etc.) Describe, además, que en los días previos ha experimentado mal control tensional con cifras elevadas y clínica de cefalea, sin dolor torácico ni palpitaciones.

### 2.5 Exploración física:

La exploración física no evidencia fiebre ni pérdida de fuerza o de sensibilidad, ni otros signos de focalidad. Niega consumo de tóxicos.

- Temperatura: 36,2°C.
- Tensión: 185/76 mmHg.
- Frecuencia cardiaca: 85 latidos por minuto.
- Glucemia capilar: 303 mg/dL.
- Saturación de oxígeno: 94%.

A su llegada el paciente se encuentra con regular estado general e inatento. Los familiares comentan que no ha tomado la medicación habitual, lo que podría explicar las cifras descompensadas de glucemia y tensión.

Se muestra normocoloreado, normohidratado y normoperfundido. La exploración cardiaca, pulmonar y abdominal resulta sin alteraciones. Se objetiva un mínimo edema pretibial bilateral a nivel de los miembros inferiores.

A nivel neurológico presenta nivel de conciencia normal, bradipsiquia marcada, hipoatención moderada-grave, sin alteración global del lenguaje, salvo que éste resulta parco con algún titubeo.

No presenta disartria, nistagmo ni paresia facial; aunque sí presenta temblor irregular generalizado de baja amplitud y moderada-alta frecuencia, probablemente mioclónico. Al paciente le resulta imposible ponerse de pie por inestabilidad en relación con la torpeza motora global.

### 3. INFORME DEL LABORATORIO

A su llegada a urgencias se realiza inmediatamente una gasometría, en la que destaca un valor de lactato venoso de

2,5 mol/L (VR: 0,6 – 1,4). En la Tabla 1 se resumen los parámetros bioquímicos más relevantes de la analítica de ingreso, destacando hiperglucemia y alteración de los perfiles hepático y renal. Además, no se detecta etanol en sangre. También se realiza hemograma y coagulación, que no presentan alteraciones significativas.

Respecto al estudio del sistemático y sedimento de orina, éste resulta poco informativo. Únicamente destaca una glucosuria compatible y esperable por la descompensación glucémica derivada de la diabetes mellitus de base. La determinación de tóxicos en orina es negativa.

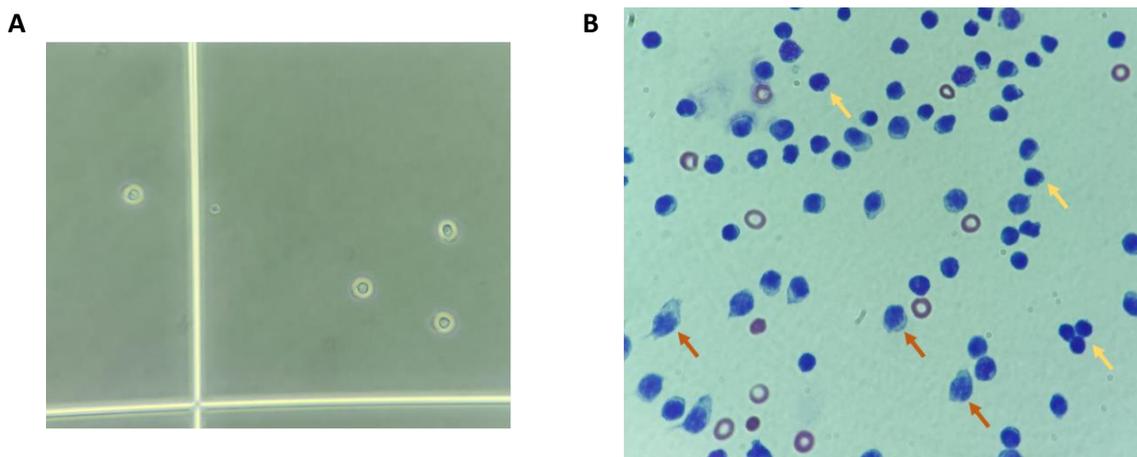
En el estudio del LCR (tabla 2) se objetiva hiperproteinorraquia e hiperglucorraquia. Tras observar el LCR fresco al microscopio para realizar el conteo celular en cámara de Neubauer, se observa un predominio de leucocitos mononucleados de aspecto homogéneo, por lo que se realiza una citocentrifugación y tinción manual Diff-Quick (Figura 1). Se constata el aspecto homogéneo de los leucocitos y se aprecian dos poblaciones bien diferenciadas, una población de leucocitos más pequeños y sin prácticamente citoplasma y otra de mayor tamaño y con citoplasma visible. Se contacta con el servicio peticionario para informar de los hallazgos encontrados.

Prueba	Unidades	Resultado	Valores de referencia
Glucosa	mg/dL	394	70 – 110
Creatinina	mg/dL	1,69	0,70 – 1,20
Filtrado Glomerular (CDK-EPI)	mL/min/1,73m <sup>2</sup>	41	≥ 60
Urea	mg/dL	83	15 – 71
Gamma-GT	U/L	78	8 – 61
LDH	U/L	271	135 – 225
Etanol	g/L	< 0,1	≤ 0,1

Tabla 1. Parámetros bioquímicos más relevantes de la analítica de ingreso en Urgencias. Elaboración propia.

Prueba	Unidades	Resultado	Valores de referencia
Glucosa	mg/dL	95	40 – 70
Proteínas	g/L	1,88	0,15 – 0,45
Hematíes	céls/μL	42	
Leucocitos	céls/μL	230	0 – 10
Leucocitos polimorfonucleares	%	0	
Leucocitos mononucleares	%	100	
Xantocromía		No xantocrómico	

Tabla 2. Parámetros bioquímicos y citológicos del LCR remitido desde Urgencias. Elaboración propia.



**Figura 1.** Apariencia de los leucocitos en el líquido cefalorraquídeo. **A)** Leucocitos mononucleados observados en cámara de Neubauer bajo el microscopio de contraste de fases, que mostraban una apariencia similar. **B)** Citocentrifugación y tinción manual Diff Quick. Se pueden diferenciar a grandes rasgos dos poblaciones, siendo una población de leucocitos de menor tamaño y sin prácticamente citoplasma (flecha amarilla) frente a otra población de leucocitos de mayor tamaño y con citoplasma observable (flecha naranja). Elaboración propia.

#### 4. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

Tras los resultados de la citología de LCR, se contacta con el servicio de Hematología para realizar el inmunofenotipo por citometría de flujo, donde se obtuvieron los siguientes resultados: LCR con aumento de la celularidad y con predominio de población linfocitoide T. Población linfocitoide B escasa y policlonal.

Además, se realiza un FilmArray® de LCR que resulta negativo para *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, *Listeria monocytogenes*, Enterovirus, Virus herpes simplex 1, Virus herpes simplex 2 y Virus varicela-zóster.

En el estudio inmunológico se obtienen resultados negativos para anticuerpos antitiroideos (antiperoxidasa y antitiroglobulina), antinucleares y ANCA (anti mieloperoxidasa, anti proteinasa 3, anti membrana glomerular). Además, la inmunofijación en suero resulta policlonal y las inmunoglobulinas y el complemento (C3 y C4) fueron normales.

Se realizan anticuerpos onconeuronales tanto en suero como en LCR que resultan negativos (GAD56, SOX1, Ma-2, Ma-1, Amphiphysin, CV2 (CRMP), Ri, Yo y Hu).

Tras enviar muestras de suero y LCR a un laboratorio externo, no se encuentra inmunorreactividad compatible con anticuerpos onconeuronales (Tr, anffisina, ZIC4) u otros anticuerpos intracelulares neuronales/gliales (GAD, GFAP, AK5) por inmunohistoquímica. Tampoco se encuentra inmunorreactividad compatible con la presencia de anticuerpos antineuropolio (anti-receptor de NMDA, AMPA, GABA<sub>A</sub>, GABA<sub>B</sub>, mGluR1, mGluR2, mGluR5, DPPX, IgLON5, neurexina, LGI1 y CASPR2). Sin embargo, nos informan de que los resultados negativos no descartan la posibilidad de que el paciente tenga un síndrome neurológico autoinmune.

El EEG muestra una lentificación leve-moderada de la actividad de fondo con reactividad parcial. Este hallazgo puede observarse en pacientes con una afectación cerebral difusa de origen farmacológico, metabólico, etc. No existen datos de afectación focal ni actividad epileptiforme. También se descarta estatus epiléptico, aunque los hallazgos son compatibles con afectación cortical o encefalopatía difusa.

El TAC cerebral no muestra signos de sangrado intracraneal ni efectos de masa. Se observa la presencia de signos de enfermedad isquémica de pequeño vaso acorde con las complicaciones vasculares que presenta.

#### 5. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Dada la clínica poco específica con la que el paciente acude a Urgencias (cuadro confusional, comportamiento extraño), el empeoramiento progresivo y las diferentes pruebas realizadas, se barajan diversas causas compatibles con el cuadro clínico:

- **Causa infecciosa. Infección del sistema nervioso central (SNC):** la cronología aguda, la aparición de fiebre y los resultados del LCR (leucocitos 100% mononucleares, hematíes, proteinorraquia sin llamativo descenso de la glucosa) orientan hacia una posible causa de origen vírico o bacteriano, por lo que se inicia cobertura antibiótica y antiviral. Se descartan casi todos los microorganismos causales tras realizar FilmArray®, tinción de Gram, cultivo de bacterias y hongos, PCR y cultivo de virus.
- **Causa Tóxico-metabólica:** la encefalopatía metabólica se sospecha tras la exploración, los hallazgos en el EEG, la alteración de la función renal, la hiperglucemia y la leve hiperuricemia. Finalmente, esta opción pierde peso tras la no resolución de la sintomatología al corregir estos factores.

- **Causa Tumoral:** la carcinomatosis meníngea se sospecha debido al aspecto homogéneo de los leucocitos mononucleares en LCR. La cronología aguda de la sintomatología, la inexistencia de síndrome constitucional previo, el no consumo de glucosa en LCR y su citología descartan esta posibilidad.
- **Causa Inmunológica:** se estudia la meningoencefalitis de etiología probablemente inmunomediada debido a la respuesta al tratamiento con corticoides e inmunoglobulinas, aunque la autoinmunidad básica y onconeuronal sea negativa.

## 6. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

La disfunción neurológica de presentación subaguda concuerda con un diagnóstico de meningoencefalitis probablemente inmunomediada. Este diagnóstico se apoya en la hiperproteinorraquia, la hipergluorraquia, los hallazgos en el EEG y la respuesta al tratamiento con inmunoglobulinas y corticoides habiendo descartado las otras posibles causas de la sintomatología del paciente. La presencia de resultados negativos respecto al estudio de autoinmunidad no descarta que el paciente tenga un síndrome neurológico autoinmune ya que existen alteraciones autoinmunes que cursan sin anticuerpos circulantes.

## 7. EVOLUCIÓN

En Urgencias se inicia cobertura antibiótica y antiviral empírica junto con corticoterapia dirigidas al SNC. Durante su estancia sufre un pico febril, por lo que se extraen hemocultivos que resultan ser estériles. Como complicaciones presenta un fracaso renal agudo AKIN-III, ya que presenta incremento agudo de la creatinina sérica de más de 0,5 mg/dL con necesidad de terapia renal sustitutiva; durante su estancia alterna episodios de hipotensión (con acidosis metabólica lactacidémica) e hipertensión arterial; *weaning* prolongado con necesidad de traqueostomía percutánea; neumonía por *Enterococcus faecium* asociada a la ventilación mecánica tratado con linezolid durante 7 días; íleo adinámico y síndrome confusional.

A continuación, ingresa a cargo de Neurología bajo la sospecha de infección del SNC. Ante empeoramiento agudo (fiebre, poliglobulia, hiperglucemia, fracaso renal agudo, hipernatremia, hipercloremia, hiperuricemia) se solicita valoración en Unidad de Cuidados Intensivos (UCI).

Durante su estancia en la UCI, se procede a intubación orotraqueal. Se objetiva infarto agudo en territorio de la arteria cerebelosa posteroinferior (PICA) en RMN cerebral, hallazgo que no explica el resto de la clínica del paciente. Ante la sospecha de meningoencefalitis y crisis comiciales se inicia tratamiento anticomicial con levetiracetam, lacosamida y ácido valproico y se suspende la antibioterapia. Al sospecharse un origen autoinmune se establece tratamiento con corticoides e inmunoglobulinas. Tras todas las pruebas realizadas, no se llega a objetivar otra causa que justifique la meningoencefalitis.

## 8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

La presencia de anticuerpos orienta al diagnóstico y tratamiento de diversas enfermedades clínicamente relacionadas. Por ello, el buen manejo de los anticuerpos como marcadores inmunológicos en las enfermedades neurodegenerativas resulta imprescindible.

Los trastornos del sistema nervioso central asociados a anticuerpos son un grupo diverso de síndromes que se dividen en dos categorías: los síndromes paraneoplásicos (SPN) y la denominada encefalitis autoinmune.

El diagnóstico de ambas entidades se basa en el reconocimiento de síndrome neurológico, la detección de anticuerpos específicos en el suero o LCR y la identificación de la neoplasia subyacente (en caso de que la hubiera).

Los SPN son un grupo heterogéneo de trastornos neurológicos que constituyen menos del 1% de las complicaciones neurológicas del cáncer. Son bastante infrecuentes, afectando generalmente a adultos de avanzada edad.

Los anticuerpos que se asocian con esta patología se dirigen contra antígenos neuronales intracelulares y se cree que la patología está mediada por la respuesta de las células T citotóxicas. No todos los pacientes con SPN presentan anticuerpos circulantes, por lo que con un resultado negativo no se puede descartar que la causa del SPN sea autoinmune.

Los SPN suelen tener un curso clínico monofásico y una respuesta limitada al tratamiento, aunque en algunos pacientes se ha visto que se produce una estabilización.

Por otro lado, la encefalitis autoinmune es más frecuente y se produce con o sin asociación a un cáncer. Afecta a pacientes dentro de un amplio rango de edad, siendo algunos predominantes en adultos jóvenes, adolescentes o niños.

Los anticuerpos asociados median la disfunción neuronal al estar dirigidos contra la superficie neuronal o receptores sinápticos. Un gran porcentaje de los pacientes responden bien al tratamiento.

Se define otro tercer grupo de desórdenes donde los antígenos diana son proteínas intracelulares sinápticas y son trastornos tanto paraneoplásicos como no relacionados con el cáncer.

### 8.1 Anticuerpos antineuronales:

Los anticuerpos antineuronales se identifican por patrón inmunohistoquímico o por inmunofluorescencia indirecta (IFI) sobre sustrato de cerebelo, cerebro o nervio periférico de primate o rata. Los anticuerpos se detectan en muestras de suero o LCR, y la mayor parte son de tipo IgG.

Un resultado positivo siempre debe ser confirmado por dos técnicas diferentes, dado el impacto que supone el resultado sobre el diagnóstico y tratamiento del paciente. El método alternativo es la inmunotransferencia en línea (LIA) con antígenos purificados o recombinantes.

A pesar de que los anticuerpos antineuronales son marcadores sensibles de SPN, pueden no detectarse hasta

en el 50% de los pacientes con esta patología y sin embargo pueden detectarse en un 16% de pacientes con cáncer, pero neurológicamente asintomáticos.

Pueden clasificarse en intracelulares o extracelulares según la ubicación de su diana antigénica, con o sin SPN asociado.

- **Anticuerpos antineuronales intracelulares:**

- Anticuerpos onconeuronales clásicos. Está demostrada su síntesis intratecal y su papel secundario en el proceso inflamatorio. Se presentan frecuentemente asociados a neoplasias y síndromes neurológicos. Son: anti-Hu (ANNA1), anti-Yo (PCA1), anti-Ri (ANNA2), anti-CV2 (CRMP5), anti-anfifisina, anti-Ma2 y anti-Tr.
- Anticuerpos onconeuronales que se expresan en el SNC con cáncer de pulmón asociado y sin clara evidencia de que la respuesta inmune contra el antígeno sea la causa del cuadro neurológico que se presenta. Son: anti-Zic4 y anti-SOX.
- Anticuerpos intracelulares no relacionados con cáncer asociados a diversos síndromes del SNC (como síndrome de la persona rígida, la ataxia cerebelar y la encefalitis límbica). Principalmente anticuerpos anti-descarboxilasa del ácido glutámico (anti-GAD65 y anti-GAD67).

- **Anticuerpos antineuronales contra antígenos de la membrana celular y sinapsis.** Son anticuerpos dirigidos frente a antígenos extracelulares que pueden asociarse tanto al SPN como a otros síndromes neurológicos no paraneoplásicos. Los más frecuentes son los anticuerpos anti-receptor NMDA (anti-NMDAr), seguidos de los anticuerpos contra la proteína LG1 asociada al canal de potasio (anti-LG11). Otros anticuerpos menos comunes incluyen anti-AMPA, anti-GABA<sub>B</sub>, anti-mGluR 1 y 5 y anti-CASPR2.

Actualmente sigue habiendo muchas preguntas sin responder en relación con los trastornos neurológicos autoinmunes. Para poder desarrollar estrategias preventivas y optimizar los tratamientos, es imprescindible conocer los mecanismos que inician y mantienen la respuesta autoinmune en los SPN y en la encefalitis autoinmune.

En los SPN la respuesta inmune se cree que viene derivada de antígenos neuronales expresados por el tumor. Pero no se conoce cuál es exactamente el mecanismo inmune que desencadena la respuesta en la encefalitis autoinmune. La ocurrencia de síntomas virales en diversos pacientes previos al desarrollo de la encefalitis sugiere que los procesos infecciosos pueden desempeñar un papel activador del sistema inmune.

### BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Reguera RM. Interpretación del líquido cefalorraquídeo. *Anales de Pediatría Continuada*. 2014;12(1):30-33.
- Collao-Parra JP, Romero-Urra C. Encefalitis autoinmunes: criterios diagnósticos y pautas terapéuticas. *Revista Médica De Chile*. 2018;146(3):351-361.
- Dalmau J, Rosenfeld MR. Autoimmune encephalitis update. *Neuro-Oncology* 16(6), 771–778, 2014. DOI: 10.1093/neuonc/nou030
- Carrasco A, Alarcón I, González C y Graus F. Identificación y utilidad clínica de los anticuerpos antineuronales. *Inmunología* 2014;33(4):128–136. DOI: 10.1016/j.inmuno.2014.04.003.

# 6- RESCATE CON RAPAMICINA EN CASO DE PÚRPURA TROMBOCITOPÉNICA AUTOINMUNE REFRACTARIA

**Autor:** Sara Peral García; Julia Sanz Gómez; Jon Sánchez Munárriz

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

**Palabras clave:** Rapamicina, trombocitopenia, Púrpura trombocitopénica inmune (PTI)

## 1. INTRODUCCIÓN

La trombocitopenia inmune (PTI) es una enfermedad autoinmune adquirida que involucra múltiples mecanismos y que se caracteriza por ser un trastorno hemorrágico con trombocitopenia que resulta del aumento de la destrucción de plaquetas y la inhibición de la producción de las mismas.

Según su etiología se clasifica como trombocitopenia inmunitaria primaria con trastorno autoinmune de causa desconocida o bien como trombocitopenia inmunitaria que se desarrolla en el contexto de otros trastornos, conocida como trombocitopenia secundaria. La PTI secundaria puede ser causada por múltiples factores, entre los que destacan la inducción de fármacos y/o la trombocitopenia inducida por enfermedades autoinmunes, como el lupus eritematoso sistémico (LES), el síndrome de anticuerpos antifosfolípidos (APS), las enfermedades autoinmunes (AITD), el síndrome de Evans (ES), enfermedad proliferativa de linfocitos e infección crónica (*helicobacter pylori*, virus de la inmunodeficiencia humana o virus de la hepatitis C). Además, las personas que reciben vacunas, por ejemplo, vacunas contra el sarampión, las paperas y la rubéola y las vacunas contra el COVID-19, pueden desarrollar trombocitopenia.

La PTI comprende tres formas diferentes de presentación ya que se puede desarrollar como una presentación aguda, un curso persistente de la enfermedad (más de 3 meses desde el inicio de la enfermedad y menos de un año) o un curso crónico de la enfermedad, con una duración mayor a 12 meses. Si bien el tratamiento de la PTI aguda se basa principalmente en la administración de inmunoglobulina intravenosa (IGiv) y corticosteroides, las opciones terapéuticas de segunda línea utilizadas en pacientes con PTI persistente y crónica son numerosas y comprenden agentes biológicos (en particular, el anti-anticuerpo monoclonal CD20 rituximab), agonistas del receptor de trombopoyetina (TPO-RAS), como eltrombopag y romiplostim, y agentes inmunosupresores (micofenolato de mofetilo, azatioprina, ciclosporina A y ciclofosfamida).

Los agentes activos sobre el sistema inmunitario y TPO-RAS pueden usarse solos o en regímenes combinados, y las guías actuales para el manejo de la PTI no regulan estrictamente la elección del tratamiento de segunda línea o la posibilidad de combinar diferentes agentes. Por lo tanto, los enfoques utilizados en la práctica clínica diaria son marcadamente heterogéneos.

A pesar del amplio número de opciones terapéuticas, un pequeño porcentaje de los pacientes con PTI crónica

presentan refractariedad al tratamiento, lo que se define por la falta de respuesta hematológica (recuento de plaquetas  $<30.000/\mu\text{l}$  o recaídas con sangrado) a los agentes inmunosupresores y TPO-RAS. Por lo tanto, existe una necesidad urgente de nuevas estrategias terapéuticas contra la PTI refractaria.

La rapamicina, también llamada sirólimus, es un inmunosupresor macrólido aislado de *Streptomyces hygroscopicus*, una bacteria que se encuentra en la isla de Rapa Nui, y que en la década de 1960 se estudió por primera vez como un fármaco antimicótico de baja toxicidad. Estudios posteriores encontraron que la rapamicina se dirige específicamente a una proteína quinasa en mamíferos, la mTOR. Los investigadores descubrieron que la rapamicina tiene efectos inmunosupresores y la sometieron a exploración clínica como un nuevo fármaco para el tratamiento del rechazo del trasplante de órganos en la década de 1980. mTOR es una serina/treonina quinasa que actúa a través de dos complejos proteicos estructural y funcionalmente distintos, el complejo mTOR 1 (mTORC1) y el complejo mTOR 2 (mTORC2), para detectar e integrar múltiples señales intracelulares. La señalización de mTOR generalmente está involucrada en la regulación de la supervivencia celular, el crecimiento celular, el metabolismo celular, la síntesis de proteínas y la autofagia, así como la homeostasis. La relevancia patológica de la desregulación de la señal de mTOR se ilustra en muchas enfermedades humanas, especialmente en la multitud de diferentes cánceres humanos. Recientemente, cada vez más informes destacan el uso de los inhibidores de mTOR para enfermedades hematológicas inmunitarias, incluida la PTI. En un ensayo<sup>1</sup> prospectivo, el sirólimus fue efectivo en la citopenia autoinmune recidivante/refractaria, particularmente en el síndrome linfoproliferativo autoinmune (ALPS).

## 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

### 2.1 Motivo de consulta:

Se trata de una mujer de 54 años con antecedentes más relevantes de una inmunodeficiencia variable común con fenotipo linfoproliferativo, administración mensual de inmunoglobulina subcutánea con afectación pulmonar intersticial y cirrosis hepática por hiperplasia nodular con hipertensión portal (sin fibrosis), con hepatoesplenomegalia y varices. En la última semana refiere deterioro del estado funcional y heces oscuras que atribuye a la toma de hierro oral por anemia crónica. En su última analítica presenta hemoglobina de 10 g/dL y plaquetas 30.000/ $\mu\text{L}$ . Acude a

urgencias por deposición melánica abundante, deterioro del estado general y mareo.

## 2.2 Antecedentes personales:

Entre los antecedentes personales, destacan:

- Meningitis aguda bacteriana con sepsis por *Streptococcus Pneumoniae* en octubre de 2011.
- Bronquiectasias bilaterales con infecciones respiratorias de repetición.
- Diagnosticada de Inmunodeficiencia variable común en el año 2012 durante un ingreso por meningitis y antecedentes de infecciones respiratorias de repetición, especialmente otitis.
- Sinusitis crónica.
- Ingreso por neumonía en 2012.
- Ingreso por infección de virus respiratorio sincitial (VRS) en 2012.
- Ingreso por infección VRS en 2019.
- Ingreso en marzo de 2019 por anemia ferropénica grave, siendo diagnosticada de hepatopatía crónica avanzada.
- Sospecha de hiperplasia nodular regenerativa.
- Ingreso en digestivo en abril de 2019 por hemorragia digestiva (Hematemesis). Ligadura de varices esofágicas en ese ingreso.
- Varices esofágicas grandes con datos de alarma. Inicio de profilaxis primaria con betabloqueo en marzo de 2019
- Bocio multinodular que afecta predominantemente a lóbulo derecho con presencia de nódulo que parece depender del istmo.
- Mastopatía fibroquística desde los 16 años.
- Hipoacusia
- Alérgica a Rituximab.

## 2.3 Antecedentes familiares:

- Padre con diabetes mellitus tipo 2.
- Un hermano con sinusitis.

## 2.4 Exploración física:

A su llegada a UCI polivalente presenta inestabilidad hemodinámica con tensión sistólica de 70 mmHg, tensión diastólica de 40 mmHg y taquicardia a 100-110 latidos por minuto. Se inicia resucitación con soporte vital avanzado mediante noradrenalina con dosis crecientes hasta 15ml/min (0.27mcg/kg/min) y transfusión de plaquetas, con mejoría de las cifras tensionales hasta tensión arterial media de 70-75mmHg. Desde el punto de vista respiratorio, buena dinámica ventilatoria con soporte con oxigenoterapia, manteniendo buena oxigenación. La paciente mantiene buen ritmo de diuresis.

## 2.5 Enfermedad actual.

La paciente presenta shock hemorrágico tras hemorragia digestiva alta, (hemoglobina de 4 g/dl y 5.000/μL plaquetas). Se realiza la gastroscopia tras la estabilización

inicial, evidenciándose gastropatía de la hipertensión portal grave con estigmas de sangrado reciente junto con una duodenitis de aspecto atrófico.

Ante la ausencia de varices o úlceras que justifiquen el sangrado, con marcada trombopenia tras transfusión, se sospecha de PTI asociada a su enfermedad de base.

## 3. INFORME DEL LABORATORIO

Tras su ingreso a la paciente se le realiza una analítica sanguínea donde se refleja una marcada trombopenia con plaquetas de 5000/μL por lo que se le realiza una transfusión de un pool de plaquetas ante aparente sangrado activo. La trombopenia persiste con valores menores de 5000/μL a pesar de que la paciente está en tratamiento con ciclo de esteroides e inmunoglobulina intravenosa (IGiv). Tras varios ciclos de corticoides e inmunoglobulinas se decidió asociar ciclofosfamida. En las 48 horas siguientes no se objetiva respuesta al tratamiento, persistiendo la inestabilidad clínica. Ante la refractariedad del caso se decide asociar romiplostim con dosis de 250 mcg/semanal.

Tras la persistencia del sangrado digestivo y la discreta mejora en la cifra de plaquetas (7000/μL) se decide asociar al romiplostim el agente inmunosupresor rapamicina con dosis iniciales de 2mg/24h. En analíticas posteriores los niveles de plaquetas comienzan a estabilizarse indicando una buena respuesta progresiva, llegando a conseguir cifras máximas de 70.000/μL plaquetas, ajustando dosis de prednisona a 20 iv/24h (previo de 30mg iv/24h) para disminuir riesgo trombótico. Tras la estabilización plaquetaria se completó el estudio con una biopsia de médula ósea que no evidenciaba datos de síndrome linfoproliferativo o infección central medular, siendo compatible con trombopenia inmune primaria.

Paralelamente a la administración de sirólimus se monitorizaron sus niveles en sangre. La concentración plasmática recomendada es entre 5 y 15 ng/mL. Es importante controlar la concentración del fármaco debido al intervalo terapéutico estrecho y las posibles reacciones adversas (estomatitis y úlceras orales, hiperlipidemia, infección, daño hepático, aumento de la presión arterial, edema, proteinuria, hipopotasemia y microangiopatía trombótica). Normalmente, se recomienda monitorizar la concentración una vez a la semana durante los primeros 3 meses después de la administración, luego una vez al mes a partir de entonces.

Los resultados de la evolución de la trombopenia asociados al tratamiento y a los niveles de rapamicina quedan reflejados en la Tabla 1 y Tabla 2.

	*D1	D2	D2	D2	D3	D3	D3	D3	D3	D4	D5	D6	D7	D8	D10	D11
Plaquetas (x1000/ $\mu$ l)	4	5	3	2	1	7	1	1	3	1	2	4	2	3	7	14
IGiv		60g/24h								24g/24h						
Prednisona	40mg											30mg				30mg
Ciclofosfamida												500mg				
Romiplostim													250 mcg			250 mcg
Rapamicina																2mg
Rapamicina en sangre (ng/mL)																

\*D: día de ingreso

**Tabla 1.** Histórico de los valores de plaquetas y el tratamiento recibido en los primeros 11 días de ingreso. Elaboración propia.

	D11	D12	D13	D14	D14	D15	D16	D17	D20	D22	D24	D27	D29
Plaquetas (x1000/ $\mu$ l)	16	15	20	18	19	20	29	40	57	73	78	62	45
IGiv													
Prednisona	30mg	30mg				30mg				20mg	20mg	10mg	
Ciclofosfamida													
Romiplostim	250 mcg						250 mcg				250 mcg		250 mcg
Rapamicina	2mg	2mg	2mg	2mg	2mg	2mg	2mg	3mg	3mg	3mg	4mg	4mg	4mg
Rapamicina en sangre (ng/mL)						2.3		3.3		6.1	6.3	6.3	11.4

\*D: día de ingreso

**Tabla 2.** Histórico de los valores de plaquetas y el tratamiento recibido en los últimos 18 días de ingreso. Elaboración propia.

#### 4. EVOLUCIÓN

Tras 29 días de ingreso la paciente es dada de alta tras encontrarse con buen estado general y se deja pautado seguir con el tratamiento con la asociación romiplostim y rapamicina. Tras el alta ha mantenido seguimiento estrecho, no ha vuelto a tener complicaciones hemorrágicas y va recuperando poco a poco su vida habitual. Está recuperando la movilidad y no presenta clínica febril ni aparición de nuevos hematomas. Aún persiste con alguna deposición blanda. Presenta buena tolerancia oral, normotensión y buena saturación. En el estudio de su última analítica de control presenta 82000/ $\mu$ l plaquetas y niveles de rapamicina en 14.6ng/ml.

#### 5. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

Las citopenias autoinmunes son un grupo heterogéneo de trastornos caracterizados por la destrucción inmunomediada de una o más líneas celulares hematopoyéticas. La mayoría

de los pacientes, especialmente los que padecen una enfermedad de una sola línea, pueden alcanzar la remisión con un tratamiento de primera línea, que incluye corticosteroides e inmunoglobulina intravenosa. Sin embargo, para los pacientes con enfermedad sintomática persistente, las opciones de terapias eficaces y bien toleradas son limitadas.

La trombocitopenia inmunitaria primaria (PTI) es un trastorno heterogéneo mediado por el sistema inmunitario que se caracteriza por una disminución del recuento de plaquetas y un aumento del riesgo de hemorragia. Los pacientes presentan diferentes grados de trombocitopenia y diferentes respuestas a los corticoides. Algunos pacientes no tienen síntomas o tienen hematomas mínimos, mientras que otros pacientes corren el riesgo de sufrir hemorragias graves, que pueden incluir hemorragia intracraneal mortal, hemorragia gastrointestinal, hemorragia extensa en la piel y las mucosas.

Las alteraciones del sistema inmunológico son múltiples. Un evento desencadenante primario (por mimetismo antigénico u otros mecanismos) origina una respuesta autoinmune que involucra mecanismos de inmunidad humoral y celular, y que es perpetuada por la deficiencia en los mecanismos reguladores de células T, células B y células dendríticas. La trombocitopenia es mediada por distintos mecanismos; la destrucción plaquetaria es causada por anticuerpos antiglicoproteínas plaquetarias (principalmente, II b/III a), pero también por citotoxicidad por células T CD8+. Estos mecanismos actúan, además, sobre los megacariocitos e inhiben la síntesis de plaquetas<sup>2</sup>.

Se han descrito células T anormales en la PTI, incluida una frecuencia más alta de células T auxiliares, una frecuencia más baja de CD4 + CD25 + FoxP3 + Tregs circulantes (células T reguladoras) y un desequilibrio en la proporción de Th1/Th2 y Treg/th17. La rapamicina puede modular este equilibrio de tres formas distintas. En primer lugar, puede dirigirse específicamente al complejo mTOR de linfocitos T, fosforilar el extremo carboxilo de mTOR, bloquear las vías coestimuladoras de la interleucina (IL)-2, IL-15 y CD28/B7 para la activación de las células T, reducir la autorreplicación del ADN de las células T, y finalmente causan la detención del ciclo celular y la disminución de la proliferación de las células T. En segundo lugar, los inhibidores de mTOR reducen la diferenciación de las células T en células Th1, Th2 y Th17, lo que da como resultado una respuesta inmunitaria disminuida. En tercer lugar, los estudios han demostrado que la vía mTOR estimula la transcripción de genes e induce el crecimiento y la proliferación celular mediante la regulación de NFAT, AP-1, STAT y otras moléculas de señalización, y estas regulaciones aumentan en las células Th1, Th2 y Th17, pero no en las Treg. Por lo tanto, la aplicación de un inhibidor de mTOR puede aumentar la proporción de células Treg en los subconjuntos de linfocitos T auxiliares, ejerciendo así aún más su efecto inmunorregulador negativo y logrando tolerancia inmunológica<sup>3</sup>.

Se encontró que la autofagia plaquetaria, regulada por la vía PI3K/AKT/mTOR, estaba disminuida en pacientes con PTI. La mejora de la autofagia plaquetaria alivió la destrucción plaquetaria. La autofagia anormal en pacientes con PTI puede ser causada por la eliminación de genes relacionados con la autofagia como ATG7 y señalización anormal debido a la sobreexpresión de mTOR, destacando así un mecanismo adicional de eficacia de los inhibidores de mTOR en el tratamiento de la PTI<sup>3</sup>.

### BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. Bride KL, Vincent T, Smith-Whitley K, Lambert MP, Blessing JJ, Seif AE, Manno CS, Casper J, Grupp SA, Teachey DT. Sirolimus is effective in relapsed/refractory autoimmune cytopenias: results of a prospective multi-

institutional trial. *Blood* [Internet]. 2016 Jan 7;127(1):17-28. Disponible en:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26504182/>

2. Donato H, Bacciedi V, Lavergne M et al. Trombocitopenia inmune. Guía de diagnóstico y tratamiento. *Arch Argent Pediatr* [Internet]. 2019;117 (6):S243-S254. Disponible en: [https://www.sap.org.ar/uploads/consensos/consensos\\_tr\\_ombocitopenia-inmune-guia-de-diagnostico-y-tratamiento-91.pdf](https://www.sap.org.ar/uploads/consensos/consensos_tr_ombocitopenia-inmune-guia-de-diagnostico-y-tratamiento-91.pdf)
3. Dan Wang, Kaniel Cassady, Zhongmin Zou, Xi Zhang & Yimei Feng (2022) Progress on the efficacy and potential mechanisms of rapamycin in the treatment of immune thrombocytopenia. *Hematology*[Internet], 27:1, 1282-1289. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36469708/>

### BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Costagliola G, Consolini R. Refractory immune thrombocytopenia: Lessons from immune dysregulation disorders. *Front Med* [Internet]. 2022 Sep 20;9:986260. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9530977>
- Jiang Ji, Yali Du, Miao Chen, Runhui Wu, Bing Han et al. Sirolimus is effective for primary relapsed/refractory autoimmune cytopenia: a multicenter study. *Regular submission* [Internet].2020 volumen 89,87-95. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32771553/>
- Miltiadous O, Hou M, Bussel JB. Identifying and treating refractory ITP: difficulty in diagnosis and role of combination treatment. *Blood* [Internet]. 2020 Feb 13;135(7):472-490. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31756253/>
- Tärniceriu CC, Hurjui LL, Florea ID, Hurjui I, Gradinaru I, Tanase DM, Delianu C, Haisan A, Lozneau L. Immune Thrombocytopenic Purpura as a Hemorrhagic Versus Thrombotic Disease: An Updated Insight into Pathophysiological Mechanisms. *Medicina (Kaunas)* [Internet]. 2022 Feb 1;58(2):211. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8875804>
- Terrell DR, Neunert CE, Cooper N, Heitink-Pollé KM, Kruse C, Imbach P, Kühne T, Ghanima W. Immune Thrombocytopenia (ITP): Current Limitations in Patient Management. *Medicina (Kaunas)* [Internet]. 2020 Nov 30;56(12):667. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7761470>

## **BLOQUE III**

---

# **GENÉTICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR**

## 7- DEFICIENCIA DE TIMIDINA QUINASA MITOCONDRIAL TIPO 2 (TK2)

**Autores:** María Navarro-Riquelme<sup>1</sup>, Pablo Serrano-Lorenzo<sup>1,2</sup>, Cristina Domínguez-González<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Enfermedades Raras, Mitocondriales y Musculares. Servicio de Bioquímica. Instituto de Investigación Hospital 12 de Octubre (imas12), Madrid.

<sup>2</sup> Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), Madrid.

<sup>3</sup> Unidad de Enfermedades Neuromusculares, Departamento de Neurología, Instituto de Investigación imas12, Hospital 12 de Octubre, Madrid.

**Palabras clave:** TK2, miopatía mitocondrial, enfermedades raras.

### 1. INTRODUCCIÓN

La timidina quinasa mitocondrial 2 es una enzima codificada por el gen nuclear *TK2*. Su función es la catálisis de la fosforilación de los nucleósidos de desoxicitidina (dC) y desoxitimidina (dT) para formar los correspondientes nucleótidos monofosfato (dCMP y dTMP), necesarios para la replicación del ADN mitocondrial (ADNmt). Mutaciones en el gen conducen al déficit de TK2, produciéndose una alteración en los niveles de nucleótidos e interfiriendo en la correcta replicación del ADNmt, pudiendo provocar una reducción en el número de copias de ADNmt (depleción de ADNmt) o la aparición de deleciones múltiples del mismo.

Clínicamente el déficit de TK2 se manifiesta como una enfermedad muscular progresiva, de gravedad variable. Los casos asociados a depleción del ADNmt son de aparición temprana y curso rápidamente progresivo, mientras los relacionados con deleciones múltiples pueden aparecer a cualquier edad y son de evolución más lenta. Se caracteriza por debilidad muscular que afecta fundamentalmente a los músculos oculares (ptosis palpebral con o sin oftalmoparesia), faciales, axiales y proximales de extremidades, así como a la musculatura respiratoria y deglutoria. La insuficiencia respiratoria es la principal causa de morbimortalidad. Los pacientes con inicio durante el primer año de vida y curso rápidamente progresivo fallecen antes de los 3 años mientras que los pacientes con formas de inicio infanto-juvenil o en la edad adulta lo hacen entre 10 y 20 años después de la aparición de los primeros síntomas.

El déficit de TK2 fue descrito en 2001 por Saada *et al.* Es un trastorno ultra raro con un patrón de herencia autosómico recesivo, y probablemente está infradiagnosticado, especialmente las formas de inicio en la edad adulta. El diagnóstico principal se basa en la evaluación clínica del paciente, análisis de parámetros bioquímicos como creatina quinasa (CK), estudio histológico de biopsia muscular para la búsqueda de signos de disfunción mitocondrial como fibras citocromo C oxidasa (COX) negativas y/o fibras rojo rotas y la presencia de deleciones múltiples en ADNmt o reducción del número de copias de ADNmt en tejido muscular. El diagnóstico definitivo se realiza mediante la detección de variantes patogénicas bialélicas en el estudio molecular del gen *TK2*.

A pesar de tratarse de una enfermedad rara y compleja, actualmente hay un tratamiento en desarrollo, ya en fases avanzadas de investigación clínica. El tratamiento se basa en compensar el déficit enzimático a través de la administración por vía oral de los desoxinucleósidos dC y dT, y ha demostrado que es capaz de restaurar la síntesis de ADNmt en el modelo animal. En los estudios clínicos en humanos está mostrando excelentes resultados, especialmente en los pacientes con un debut temprano de la enfermedad y rápida progresión.

### 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

#### 2.1. Motivo de consulta:

Mujer de 61 años que acude a consulta debido a sufrir disnea de pocos esfuerzos, fatiga muscular intensa y desproporcionada a la actividad física realizada y ortopnea. La paciente refiere que se despierta con frecuencia a lo largo de la noche y su sueño no es reparador, aunque no presenta excesiva somnolencia diurna. Sufre cefaleas ocasionales, así como sensación de aturdimiento y dificultades para concentrarse y evocar recuerdos. Asimismo, cuenta dificultades motoras en forma de tropiezos frecuentes, dificultad para incorporarse del suelo si se cae o para levantarse de superficies bajas sin apoyo, subir escaleras o levantarse de la cama.

#### 2.2. Antecedentes personales:

Entre los antecedentes personales de la paciente destacan:

- Tuberculosis a los 22 años. Bronquiectasias.
- Insuficiencia mitral leve. Fibrilación auricular paroxística. Tratada con anticoagulantes (Acenocumarol).
- Ptosis palpebral, intervenida quirúrgicamente.

#### 2.3. Antecedentes familiares:

La paciente forma parte de una familia de 12 hermanos de los cuales dos hermanas presentan síntomas similares.

En la historia familiar se destaca la existencia de consanguinidad en sus padres (primos segundos).

**2.4. Enfermedad actual:**

La paciente muestra un cuadro de debilidad muscular, de curso lentamente progresivo. Presenta dificultades para subir escaleras y levantarse del suelo y es incapaz de correr o saltar. Presenta dificultades para tragar con ocasional regurgitación nasal de los líquidos, accesos de tos durante la comida y ocasionales atragantamientos, aunque sin repercusión ponderal secundaria. Tiene diversos problemas oculares, con frecuentes úlceras corneales, debido a la incapacidad para la oclusión palpebral eficaz. Además, junto a la ortopnea, relata síntomas compatibles con alteración respiratoria durante el sueño.

**2.5. Exploración física:**

En la exploración neurológica se observa:

- Ptosis bilateral intervenida quirúrgicamente y limitación parcial de la movilidad ocular.
- Debilidad facial bilateral simétrica, de predominio en orbicularis oris.
- Sistema motor con hipotrofia generalizada, sin amiotrofias focales.
- Exploración de la fuerza:

- Incapacidad para elevar y sostener la cabeza en el decúbito.

- Balance muscular normal en brazos y musculatura distal de miembros inferiores. Debilidad de musculatura proximal de extremidades inferiores con dificultad para incorporarse desde el suelo (realiza la maniobra de Gowers), necesidad de apoyo para levantarse de una silla e incapacidad para saltar y correr.
- Hiporreflexia global y reducción de la sensibilidad vibratoria distal con Romberg negativo.

**3. INFORME DE LABORATORIO**

Las analíticas de bioquímica (perfil básico, lipídico y tiroideo) y hemograma resultaron normales. Los niveles de CK estaban discretamente alterados (200-400 UI/l).

**4. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS**

A la paciente se le realizan otras pruebas complementarias de imagen y de función respiratoria. Los datos se recogen en la Tabla 1.

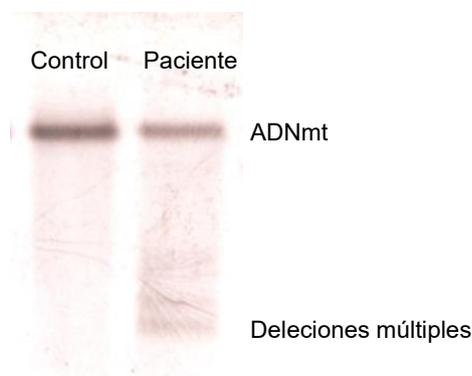
Pruebas	
<b>Radiografía de tórax</b>	Estudio de tórax sin alteraciones significativas para la edad del paciente.
<b>Polisomnografía</b> (En condiciones basales durante 7h2m)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 2 apneas (1 central y otra obstructiva) y 41 hipopneas.</li> <li>- 57 desaturaciones (3%), manteniendo una SpO<sub>2</sub> media 92%, pasa 3.8% del tiempo &lt;90%.</li> </ul> <p style="text-align: center;">Tc<sub>p</sub> media 44mmHg, máxima 46mmHg.</p>
<b>Pulsioximetría nocturna</b>	Tiempo transcurrido de SpO <sub>2</sub> < 88% 15,99%. ODI 12,65 SpO <sub>2</sub> media 91,70%. Promedio de caídas/hora 7,94.
<b>Gasometría diurna</b>	<p>pCO<sub>2</sub> 40</p> <p>HCO<sub>3</sub> 24.8</p> <p>BE<sub>b</sub> 0</p>
<b>Resonancia magnética muscular de extremidades inferiores</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pelvis-muslos: atrofia con infiltración grasa grado 2-3 de Mercuri de rectos abdominales, oblicuos externos y musculatura paravertebral, y porción externa del vasto lateral.</li> <li>- Glúteo mayor bilateral: infiltración grasa severa 4.</li> <li>- Tensor de la fascia lata, sartorio, psoas y resto de la musculatura glútea: infiltración grasa grado 1-2.</li> <li>- Piernas: infiltración grasa grado 3-4 de gastrocnemios mediales, y grado 2 de gastrocnemios laterales. Compartimentos anterior y posterior profundo: infiltración grasa grado 1, y más sutil de compartimento lateral.</li> </ul>

**Tabla 1.** Resultados de las pruebas de imagen y respiratorias solicitadas a la paciente. SpO<sub>2</sub>: saturación de oxígeno; pCO<sub>2</sub>: presión parcial de dióxido de carbono. Elaboración propia.

## 5. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Se realiza una biopsia muscular que muestra la presencia de abundantes fibras rojo rotas (10%), así como numerosas fibras COX negativas (11%), compatibles con una miopatía mitocondrial. Para completar el estudio se remite una muestra de músculo al Laboratorio de Enfermedades Mitocondriales y Neuromusculares para el estudio de la actividad de cadena respiratoria mitocondrial (CRM) y estudio genético-molecular de ADNmt.

El estudio de la CRM reveló un déficit de complejo III. Además, se observó un aumento de la actividad citrato sintasa, lo que sugiere una proliferación mitocondrial. El estudio de deleciones múltiples de ADNmt resultó positivo mediante el método de Southern Blot (Figura 1), altamente específico para el diagnóstico de defectos en el mantenimiento del ADNmt. Por este motivo se incluyó a la paciente para su secuenciación en un panel de 13 genes nucleares asociados a este tipo de defectos, priorizándose la variante c.604\_606del (NM\_004614: p.Lys202del) en



**Figura 1.** Resultado obtenido en el Southern Blot donde se observa la presencia de deleciones múltiples en la paciente frente a la ausencia en el control. Elaboración propia.

homocigosis en el gen *TK2*. Esta variante ha sido descrita previamente en la literatura como patogénica, siendo una de las variantes más frecuentemente identificadas en pacientes adultos con déficit de *TK2* en población española.

Finalmente, estos análisis histoquímicos y moleculares han permitido confirmar el diagnóstico de déficit de *TK2*, siendo de especial relevancia para la paciente, pues existe un tratamiento específico de la enfermedad que permite mejorar significativamente su pronóstico.

Tras hallar la variante patogénica que presenta la paciente, se solicita un estudio genético dirigido a sus dos hermanas afectas. Ambas son portadoras homocigotas de la variante patogénica hallada en la hermana, confirmándose también su diagnóstico y la posibilidad de recibir un tratamiento específico.

## 6. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Las hipótesis barajadas en un paciente con el perfil clínico descrito incluyen las siguientes posibilidades:

- Otras enfermedades mitocondriales:
  - Otros defectos del mantenimiento del ADNmt (debido a mutaciones en otros de los genes de la ruta como *POLG* o *TWINK*).
  - Otras miopatías mitocondriales que cursan con debilidad de la musculatura ocular como las relacionadas con una deleción única del ADNmt.
- Antes de la biopsia muscular también deben entrar en el diagnóstico diferencial:
  - Otras miopatías que cursan con alteración ocular como la distrofia oculofaríngea
  - Otros trastornos neuromusculares como las miastenias autoinmunes o congénitas.

## 7. EVOLUCIÓN

Tras el diagnóstico definitivo y ante la ausencia de otras alternativas terapéuticas, acepta participar en un estudio para evaluar la seguridad y eficacia del tratamiento con nucleósidos (dT+ dC), en pacientes con defectos en el mantenimiento del ADNmt, dentro de un proyecto de medicina personalizada. Inicia tratamiento oral en pauta ascendente hasta dosis de 400 mg/kg/día, repartidos en tres tomas, y se observa una evidente mejoría en poco tiempo. Presenta reducción marcada de la fatiga y mejorías motoras funcionales. Recupera por completo la fuerza de los músculos cervicales, la capacidad para incorporarse de los asientos sin apoyo y comienza a subir escaleras sin dificultad. También desaparecen los atagantamientos, así como los síntomas de hipoventilación alveolar nocturna y la ortopnea, no precisando el uso de ventilación mecánica en ese momento a pesar de los síntomas iniciales. El único efecto secundario identificado es la presencia de diarrea dosis-dependiente que cede en pocas semanas de tratamiento. Tras esta mejoría inicial, a partir de los dos años de tratamiento, experimenta un lento empeoramiento, con reaparición de los síntomas de insuficiencia respiratoria que precisan instaurar ventilación mecánica no invasiva durante las horas del sueño. El tratamiento por tanto en este caso consigue enlentecer, pero no detener, la progresión de la enfermedad.

## 8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

Los síndromes del mantenimiento del ADNmt, donde se encuadra el déficit de *TK2*, son un grupo de enfermedades mitocondriales caracterizadas por presentar alteraciones en genes nucleares responsables de los mecanismos de replicación y mantenimiento del ADNmt, dinámica mitocondrial y síntesis y regulación de nucleótidos, provocando como consecuencia una pérdida de integridad y estabilidad del ADNmt.

Molecularmente, esta disfunción en los mecanismos de mantenimiento del ADNmt se manifiesta mediante una reducción en el número de copias de ADNmt (depleción de ADNmt) o bien con la presencia de deleciones múltiples del ADNmt.

Clínicamente el déficit de TK2, al igual que otras alteraciones en el mantenimiento del ADNmt, se caracteriza por presentar una gran variabilidad fenotípica, existiendo casos graves de presentación temprana (antes del primer año de vida) asociados a depleción del ADNmt y casos de presentación en la edad adulta de fenotipo más leve, asociados en este caso a la presencia de deleciones múltiples en ADNmt. El síntoma predominante de la enfermedad es la debilidad muscular de curso progresivo, con afectación respiratoria temprana. Se han descrito casos neonatales con afectación del sistema nervioso central (encefalopatía), que son excepcionales. Una característica del déficit de TK2 que lo diferencia de otras enfermedades musculares es la afectación precoz y preferente de los músculos respiratorios, especialmente el diafragma, siendo ésta la causa más importante de morbi-mortalidad en todos los casos.

El diagnóstico de la enfermedad es molecular, mediante la identificación de mutaciones bialélicas en el gen *TK2*. Sin embargo, los estudios en biopsia muscular son de gran ayuda para orientar el diagnóstico. Por un lado, la presencia de fibras rojo rasgadas y COX- en los estudios histoquímicos indica una posible enfermedad mitocondrial, mientras que el estudio de depleción de ADNmt o deleciones múltiples en el tejido muscular acotaría la búsqueda dentro del grupo de defectos del mantenimiento del ADNmt en caso de ser positivos.

En cuanto a posibles tratamientos para la enfermedad, actualmente se encuentra en fase de investigación clínica el tratamiento oral con nucleósidos en los pacientes con déficit de TK2 (con número de identificación en [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT03845712) NCT03845712). Se postula que la administración en dosis altas de los nucleósidos impulsan la síntesis de nucleótidos trifosfato a través de vías de rescate por parte de las enzimas timidina quinasa 1 (TK1) y desoxicitidina quinasa (dCK) citosólicas. Los nucleótidos sintetizados por estas vías en el citoplasma son importados a través de la membrana mitocondrial mediante un transportador específico, permitiendo la recuperación del pool de nucleótidos necesarios para la síntesis y replicación del ADNmt.

Mediante la terapia con nucleósidos se ha demostrado una recuperación significativa de las funciones motora, respiratoria y de deglución y una marcada prolongación de la supervivencia en los pacientes tratados, sin observarse efectos tóxicos relevantes. El tratamiento es especialmente eficaz en los casos de inicio temprano con depleción de ADNmt donde, si el tratamiento es precoz, permite revertir los efectos de la enfermedad y detener su progresión. El efecto del tratamiento en pacientes con deleciones múltiples de ADNmt y un curso clínico menos grave sigue en estudio.

En conclusión, el déficit de TK2 es una enfermedad ultrarara cuyo diagnóstico genético permite ofrecer al paciente un tratamiento específico que, por primera vez en una enfermedad mitocondrial, consigue modificar significativamente su historia natural y prolongar su supervivencia.

## BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Saada A, Shaag A, Mandel H, Nevo Y, Eriksson S, Elpeleg O. Mutant mitochondrial thymidine kinase in mitochondrial DNA depletion myopathy. *Nat Genet* 2001; 29:342–4.
- Berardo A, Domínguez-González C, Engelstad K, Hirano M. Advances in thymidine kinase 2 deficiency: Clinical aspects, translational progress, and emerging therapies. *J Neuromuscul Dis.* 2022;9(2):225–35.
- Garone C, Taylor RW, Nascimento A, Poulton J, Fratter C, Domínguez-González C, et al. Retrospective natural history of thymidine kinase 2 deficiency. *J Med Genet.* 2018;55(8):515–21.
- Hirano M, Emmanuele V, Quinzii CM. Emerging therapies for mitochondrial diseases. *Essays Biochem.* 2018;62(3):467–81.
- Domínguez-González C, Hernández-Laín A, Rivas E, Hernández-Voth A, Sayas Catalán J, Fernández-Torrón R, et al. Late-onset thymidine kinase 2 deficiency: a review of 18 cases. *Orphanet J Rare Dis.* 2019; 14; 100.
- Domínguez-González C, Fernández-Torrón R, Moore U, de Fuenmayor-Fernández de la Hoz CP, Vélez-Gómez B, Cabezas JA, et al. Muscle MRI characteristic pattern for late-onset TK2 deficiency diagnosis. *J Neurol.* 2022; 269(7):3550–62.
- López-Gómez C, Levy RJ, Sánchez-Quintero MJ, Juanola-Falgarona M, Barca E, García-Díaz B, et al. Deoxycytidine and deoxythymidine treatment for thymidine kinase 2 deficiency. *Ann Neurol.* 2017; 81(5):641–52.
- El-Hattab AW, Craigen WJ, Scaglia F. Mitochondrial DNA maintenance defects. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2017;1863(6):1539–55.
- Jou C, Nascimento A, Codina A, Montoya J, López-Gallardo E, Emperador S, et al. Pathological features in paediatric patients with TK2 deficiency. *Int J Mol Sci.* 2022;23(19):11002.
- de Barcelos IP, Emmanuele V, Hirano M. Advances in primary mitochondrial myopathies. *Curr Opin Neurol.* 2019;32(5):715–21.

## 8- DIABETES Y SORDERA MITOCONDRIAL DE HERENCIA MATERNA

**Autores:** Paula Iniesta del Río<sup>1</sup>; Pablo Serrano-Lorenzo<sup>1,2</sup>; Adrián González-Quintana<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup> Laboratorio de Enfermedades Raras, Mitocondriales y Musculares. Servicio de Bioquímica. Instituto de Investigación Hospital 12 de Octubre (imas12), Madrid.

<sup>2</sup> Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER).

**Palabras clave:** Diabetes, Hipoacusia, ADN Mitocondrial.

### 1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades mitocondriales comprenden un grupo heterogéneo de enfermedades de base genética producidas por un fallo en el sistema de fosforilación oxidativa (OXPHOS), la ruta final del metabolismo energético mitocondrial, con la consiguiente deficiencia en la biosíntesis de ATP (trifosfato de adenosina). Son causadas por alteraciones en genes que codifican subunidades o factores de ensamblaje de los diferentes complejos OXPHOS, o bien, proteínas y/o enzimas que participan en la dinámica mitocondrial, en el mantenimiento o traducción del ADN mitocondrial (ADNmt) que afectan indirectamente al sistema OXPHOS.

Clínicamente se caracterizan por ser enfermedades muy heterogéneas, generalmente multisistémicas y progresivas. Se han descrito mutaciones en más de 350 genes, tanto codificados por el ADN nuclear (ADNn) como por el ADNmt, asociados a patología mitocondrial, no existiendo, en general, una clara relación fenotipo-genotipo. La edad de la aparición de los síntomas puede ocurrir en el período neonatal, la infancia o la edad adulta, siendo generalmente mayor la gravedad de los síntomas en los casos de inicio temprano de la enfermedad.

Los defectos del ADNmt se transmiten por herencia materna. Estas mutaciones son relativamente frecuentes, ya que el ADNmt se encuentra desprotegido frente a la acción de los radicales libres, y por tanto tiene una mayor tasa de mutación que el ADNn.

El ADNmt es poliplásmico, es decir, está presente en un elevado número de copias por célula, dando lugar a la heteroplasmia, es decir, la coexistencia de moléculas de ADNmt mutado y moléculas normales en una misma célula. El fenómeno de heteroplasmia da lugar al “efecto umbral” (nivel de heteroplasmia de ADNmt mutado necesario para que se produzca la aparición de los síntomas). El porcentaje de heteroplasmia puede variar entre individuos de una misma familia, y entre órganos y tejidos de un mismo individuo, lo que contribuye a la heterogeneidad fenotípica característica de estas enfermedades.

Las mutaciones en el ADNmt son etiologías raras de la diabetes mellitus (DM) del adulto, estimándose que aproximadamente un 2% de pacientes con diabetes tienen diabetes mitocondrial, también llamada “diabetes y sordera heredadas de la madre” MIDD (por sus siglas en inglés, *Maternally Inherited Diabetes and Deafness*). Se trata de una forma rara de diabetes y se describió por primera vez en 1992. En la MIDD, la diabetes parece deberse principalmente

a un defecto en la secreción de insulina, mientras que la sensibilidad a la insulina no se altera.

Este síndrome, además de la presencia de diabetes de herencia materna y sordera neurosensorial, suele presentarse con una distrofia macular en patrón, producido generalmente por una mutación del ADNmt, que resulta de una sustitución de una adenina (A) por una guanina (G) en la posición 3243 (m.3243A>G), en el gen *MT-TL1* que codifica en el ARN de transferencia de leucina mitocondrial (ARNt-Leu). Otras mutaciones puntuales del ADNmt se han asociado con MIDD, pero estas son extremadamente raras.

La mutación m.3243A>G produce una disfunción en la traducción de proteínas codificadas por el ADNmt con la consiguiente reducción en la capacidad funcional de los complejos OXPHOS, lo que conduce a una generación reducida de ATP. En las células beta pancreáticas, se cree que la generación alterada de ATP tiene como resultado una síntesis deficiente de insulina, dando lugar a la diabetes.

El diagnóstico de MIDD se sospecha en base a la presencia de uno o más de los siguientes signos clínicos: 1) heredabilidad materna de la diabetes o alteración de la tolerancia a la glucosa con un IMC (índice de masa corporal) normal, 2) deficiencia auditiva y 3) maculopatías.

El diagnóstico de esta forma de diabetes es importante debido a los problemas de manejo y complicaciones específicas de esta entidad, permitiendo una prevención y un adecuado manejo de los trastornos asociados, tanto en el paciente como en sus familiares maternos.

Un historial familiar de diabetes, sordera y presencia de distrofia retiniana debe hacer sospechar de MIDD. Las complicaciones microvasculares, que no guardan relación con la duración de la diabetes, son otra pista para el diagnóstico. Las manifestaciones retinales y renales de la enfermedad mitocondrial pueden confundirse con complicaciones diabéticas. La negatividad del autoanticuerpo descarboxilasa del ácido glutámico (GAD) en un diabético no obeso es otro indicio de MIDD. Los defectos de conducción cardíaca y la DMG (diabetes mellitus gestacional) también pueden generar sospechas en cuanto al diagnóstico.

Reconocer esta etiología de la DM es importante, pues posibilita la detección de la enfermedad en otros miembros de la familia, el asesoramiento genético, la detección de comorbilidades asociadas y un correcto tratamiento.

## 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

### 2.1 Motivo de consulta:

Varón de 29 años diagnosticado de DM en el año 2007 por hallazgo de glucemia elevada en analítica de control sin clínica cardinal de diabetes. Inició seguimiento en Endocrinología y se inicia el tratamiento con repaglinida. Posteriormente se pauta metformina, que tuvo que ser disminuida por diarrea, y tratamiento con insulina.

No cumple adecuadamente la dieta para diabéticos. Refiere tener un control glucémico muy variable (hipo-hiper). Sus últimas determinaciones de hemoglobina glicada oscilan entre el 7,6% y 9,1% (Valor de referencia, normales 4,5-5,6%; prediabetes 5,7-6,4% y diabetes  $\geq$ 6,5%)

Refiere hipoacusia progresiva desde los 25 años con mala inteligibilidad. Es portador de audífonos bilaterales que no interfieren con su actividad habitual desde hace 6 años.

### 2.2 Antecedentes personales:

Entre los antecedentes personales, destacan:

- Diabetes mellitus.
- Intervenido de forma programada para implante coclear, por sordera completa a nivel de oído derecho realizado bajo anestesia general, sin incidencias intraoperatorias. Se le otorga una discapacidad del 53% por hipoacusia.
- Miopatía, intolerancia al ejercicio y disnea de grandes esfuerzos. Presenta mialgias ocasionales en todos los músculos y parestesias a nivel de las manos.
- Nevus en cuello.
- Apendicetomía.
- Intervenido de tiroidectomía total por carcinoma papilar de tiroides sobre bocio multinodular.

### 2.3 Antecedentes familiares:

- Abuela materna no diabética. No hipoacusia.
- Madre con 71 años diagnosticada de DM, en tratamiento con antidiabéticos orales, e hipoacusia bilateral.
- Dos hermanas de la madre de 69 años y 63 años sin diabetes ni hipoacusia.
- 2 hermanos: 43 y 41 años. El hermano de 41 años con hipoacusia, sin DM.
- 1 hermana de 38 años. Comenzó con DM a los 15 años. No hipoacusia.
- Primos: 2 mujeres y 2 varones sin diabetes ni hipoacusia.
- No antecedentes familiares de enfermedad tiroidea.
- No tiene hijos.

### 2.4 Enfermedad actual:

Paciente de 45 años, con sospecha de diabetes mitocondrial al presentar hipoacusia, diabetes y otros síntomas asociados a enfermedad mitocondrial. Además, tiene varios familiares por vía materna con clínica similar.

Mantiene un control subóptimo de su diabetes (última hemoglobina glicada de 7,6%), bajo insulino terapia.

Mostró unos valores elevados de CK (creatina quinasa) 1170 UI/L (VR: 34 - 131 UI/L) en último control. Clínicamente el paciente refiere mayor cansancio e intolerancia al ejercicio con mayor fatigabilidad muscular y mialgias ocasionales.

Con respecto a la hipoacusia neurosensorial bilateral, ha bajado la inteligibilidad respecto a logaudiometría previa. Refiere insomnio desde que le operaron del tiroides y pérdida de memoria frecuente (olvido de nombres y palabras).

### 2.5 Exploración física:

- Peso 65 Kg. Altura 163cm
- Cabeza y cuello: cicatriz de tiroidectomía.
- Auscultación cardiaca: rítmico sin soplos. Auscultación pulmonar: murmullo vesicular conservado.
- Abdomen: Lipohipertrofias en abdomen, blando, no doloroso. No se palpan masas ni megalias.
- No semiología de ascitis ni irritación peritoneal. Ruidos presentes. Puño percusión renal bilateral negativa.
- Miembros superiores: Movilidad, Actividad y Reflejos normales.
- Miembros inferiores: Lipohipertrofia de ambos muslos. Pies planos. No úlceras. Callosidades. No edemas ni datos de TVP.
- Pulsos pedios conservados. Sensibilidad propioceptiva conservada.
- Fuerza normal.
- Tándem con algo de disimetría. No disdiacocinesis.
- Exploración neurológica normal. Hiporreflexia generalizada

## 3. INFORME DEL LABORATORIO

Los datos de interés de la analítica de Bioquímica están reflejados en la Tabla 1.

En el Laboratorio de Enfermedades Mitocondriales Raras y Neuromusculares se realiza un panel de 20 mutaciones puntuales frecuentes en ADNmt mediante el método de minisequenciación (Figura 1) en muestra de ADN proveniente de orina (células uroepiteliales).

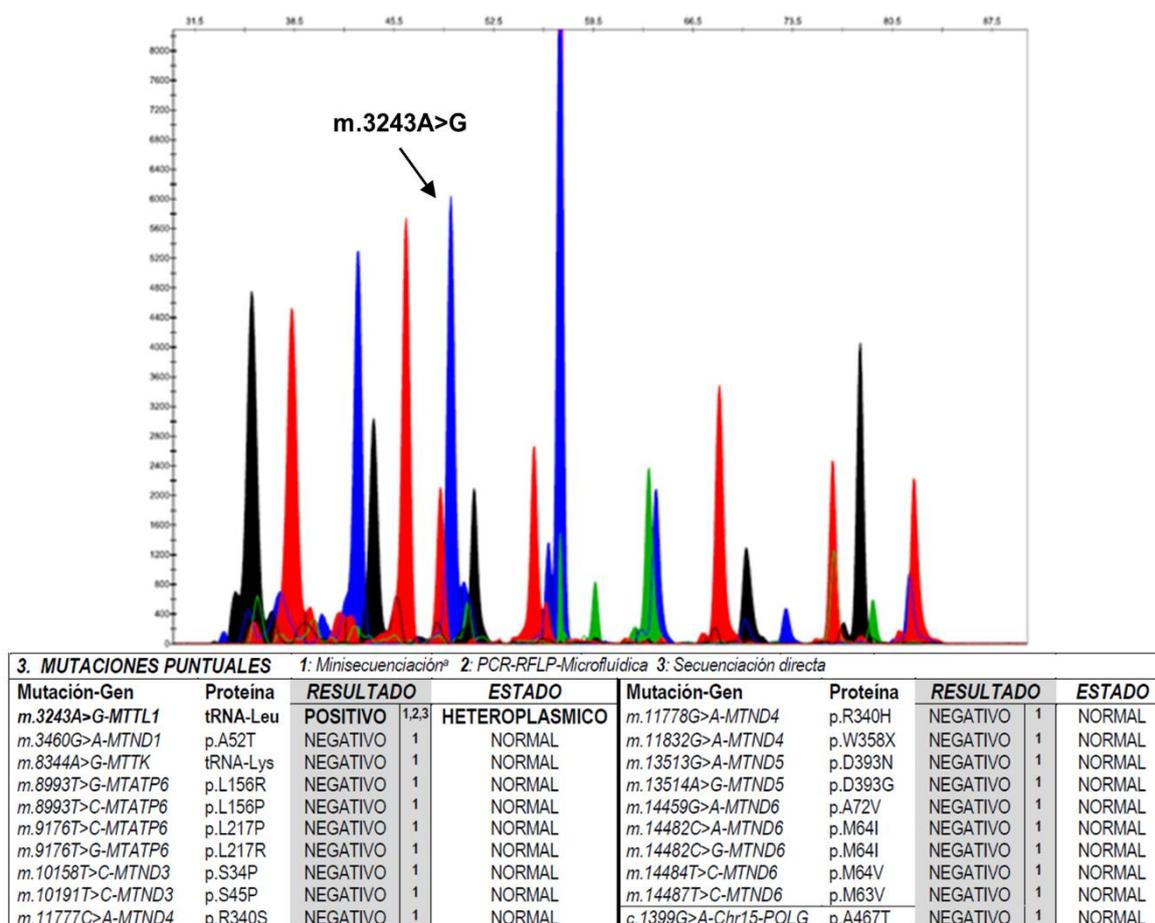
Se obtiene un resultado positivo para la mutación m.3243A>G en heteroplasmia en el gen *MT-TL1* que codifica el ARNt -Leu.

Al evidenciarse una mutación en estado heteroplásmico en el estudio de minisequenciación, se procede a cuantificar el nivel de heteroplasmia mediante métodos más precisos como PCR-RFLP con separación microfluídica en BioAnalyzer2100 Agilent (Figura 2) y secuenciación Sanger tanto en orina como en nueva muestra de sangre (Figura 3). El nivel de heteroplasmia de la mutación m.3243A>G en orina fue del 90% en ambos métodos y en sangre se obtuvo un 21% de heteroplasmia mediante secuenciación Sanger y un 28% mediante cuantificación con PCR-RFLP.

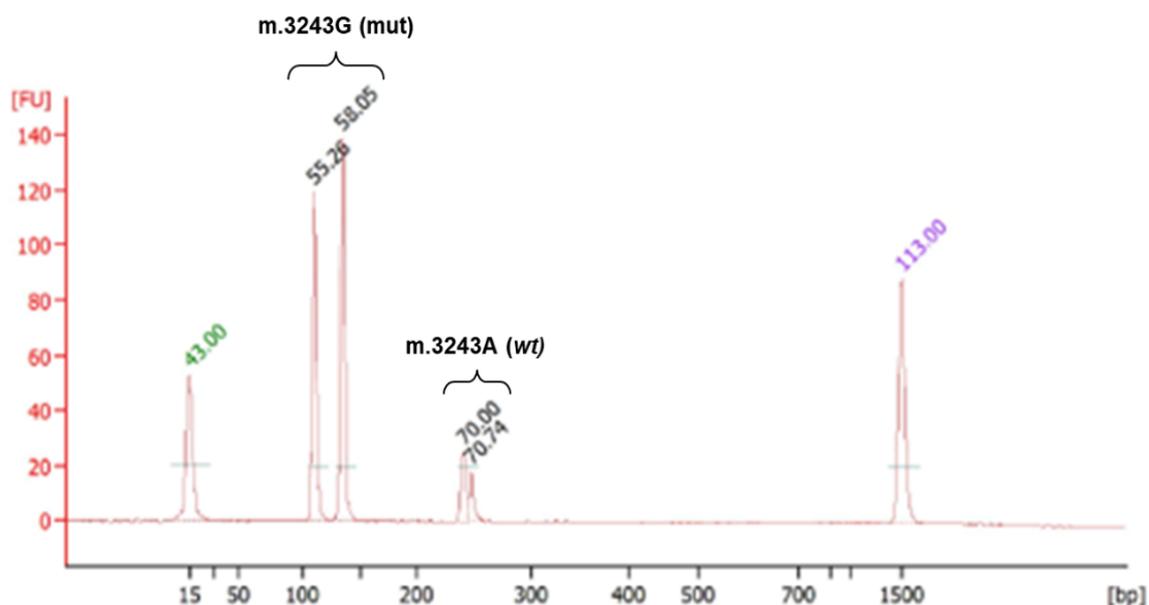
Al ser una enfermedad de herencia materna se comenta con el servicio peticionario la posibilidad de estudiar a otros familiares por vía materna.

Prueba	Muestra	Resultado	Valores de referencia/ unidades
Glucosa	Sangre	152	70-110 mg/dL
Lactato		2,6	0,6-1,8 mmol/L
Hemoglobina glicada (DCCT)		6,8	4,5-5,6%
CK		255	34 - 131 UI/L

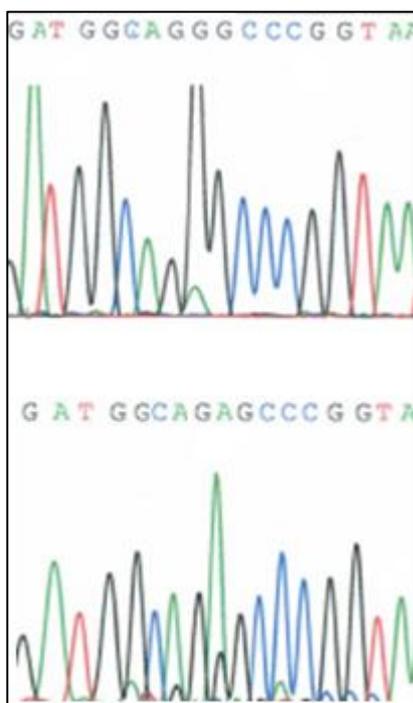
**Tabla 1.** Resultados de las pruebas de laboratorio solicitadas para dilucidar el origen de la diabetes. DCCT: ensayo de control y complicaciones de la diabetes. Elaboración propia.



**Figura 1.** Minisequenciación método SnapShot de Roche (imagen superior) para estudio de un panel de mutaciones puntuales del mtDNA y resultado (imagen inferior). Elaboración propia.



**Figura 2.** Análisis PCR-RFLP semicuantitativo en método microfluídico BioAnalyzer2100 Agilent por el cual se aprecia un alto porcentaje de heteroplasmia en la muestra de orina (90%). Elaboración propia.



**Figura 3.** Amplificación del fragmento de ADN de interés por secuenciación Sanger para confirmar la presencia de la mutación en orina (imagen superior) y en sangre (imagen inferior). Elaboración propia.

#### 4. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

- Audiometría tonal: hipoacusia profunda en oído derecho e hipoacusia severa en oído izquierdo. Pérdida de 40-50dB con el paso de 10 años.

- Electrocardiograma: Hipertrofia del ventrículo izquierdo.

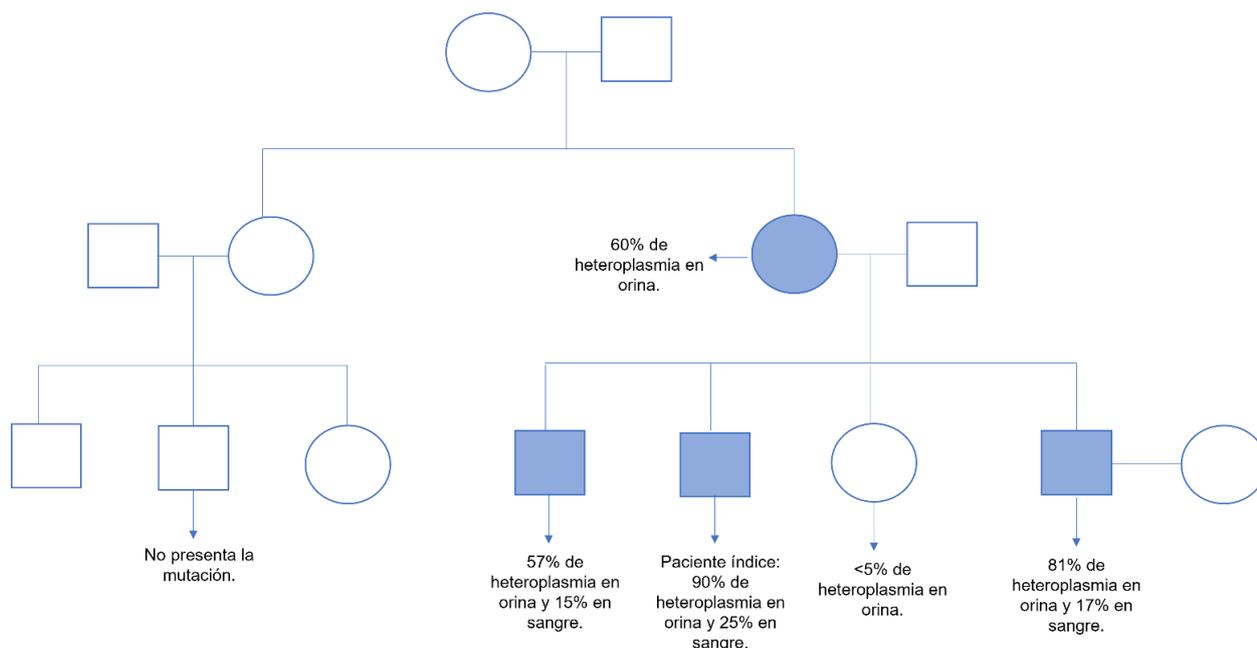
#### 5. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Los resultados genéticos permiten conocer que el paciente es portador con un alto porcentaje de heteroplasmia en orina de la mutación m.3243A>G, una de las variantes más frecuentes causantes de enfermedad mitocondrial. Esta variante se ha asociado principalmente al síndrome de encefalomiopatía mitocondrial, acidosis láctica y episodios similares a ictus o “stroke-like” (MELAS), enfermedad progresiva y multisistémica con elevada morbimortalidad e importante afectación neurológica. Sin embargo, la variante m.3243A>G también se ha asociado a una amplia variedad de fenotipos, incluyendo diabetes y sordera, como es el caso del paciente a estudio.

Adicionalmente, se remiten al Laboratorio de Enfermedades Mitocondriales muestras de sangre y orina de diversos familiares por vía materna para estudiar si presentan la mutación:

- Madre del paciente, la cual presenta diabetes e hipoacusia.
- Hermana del paciente, que presenta diabetes mellitus desde los 15 años.
- Hermano del paciente que presenta diabetes.
- Hermano menor del paciente asintomático.
- Primo por vía materna asintomático.

Tras estudiar a estos familiares, obtenemos que todos ellos presentan la mutación a excepción del primo por vía materna. Los niveles de heteroplasmia de los diferentes tejidos y miembros de la familia están reflejados en el árbol familiar (Figura 4). El hermano asintomático presenta valores muy



**Figura 4.** Árbol genealógico familiar con sus respectivas heteroplasmas obtenidas por análisis PCR-RFLP semicuantitativo en método microfluídico BioAnalyzer2100 Agilent en distintos tejidos. Elaboración propia.

bajos de heteroplasma en orina (<5%), mientras que la madre y hermanos sintomáticos presentan valores mucho más elevados en ese tejido.

También se observan valores más bajos de heteroplasma en sangre que en orina en todos los miembros de la familia. Esto se debe a que la sangre presenta una mayor tasa de recambio celular, por lo que con el tiempo tiende a disminuir la carga mutacional en comparación con tejidos con menor recambio celular, como las células uroepiteliales de la orina. Por este motivo, para analizar posibles mutaciones en el ADNmt, es preferible el uso de tejidos con menor tasa de recambio, como orina o músculo, para así disminuir la posibilidad de obtener resultados falsos negativos.

## 6. EVOLUCIÓN

Tras establecer el diagnóstico definitivo, y después de estudiar a sus familiares, el paciente lleva 4 años con implante coclear y evolución desfavorable de su hipoacusia, presentando un deterioro creciente de su capacidad auditiva. Persiste con mialgias ocasionales, refiere dolor intenso en brazos y piernas, disnea de grandes esfuerzos, astenia, contracturas y rigidez.

Cabe destacar que, en la actualidad, no hay tratamiento curativo para estas enfermedades. No obstante, hay alternativas terapéuticas paliativas o sintomáticas. Los pilares fundamentales del tratamiento residen en: ejercicio rehabilitador y logopedia, precursores del óxido nítrico (como la arginina y la citrulina y los antioxidantes como la coenzima Q10), cofactores esenciales de la cadena respiratoria y vitaminas, estos dos últimos con evidencia limitada.

La Unidad de Enfermedades Raras del Servicio de Medicina

Interna, para intentar mejorar la función OXPHOS y la tolerancia a actividad física del paciente, determina la administración de:

- Decorenone® 50mg (Coenzima Q10 o ubiquinona) un comprimido cada 8 horas.
- Riboflavina (fórmula magistral) 100mg por la noche.
- Arginina 7 gramos cada 12 horas.
- Multicentrum® 1 comprimido al día.
- Creatina 5 gramos durante dos semanas y retirar si no se evidencia mejoría.

Se dan pautas de ejercicio. Se recomiendan estatinas a dosis bajas, ya que disminuyen los niveles de lactato post-ejercicio. En el futuro se deberá evitar la Metformina, ya que los pacientes con MIDD tienen tendencia a desarrollar niveles de ácido láctico en reposo elevados que pueden aumentar de forma abrupta en situaciones de estrés y agravarse con el tratamiento con metformina, dado que este medicamento parece inhibir el complejo I de la cadena respiratoria mitocondrial. Se han descrito otros fármacos con efectos perjudiciales sobre la función mitocondrial como antibióticos (tetraciclinas y cloranfenicol) o antiepilépticos (valproato, fenitoína y fenobarbital).

Mantiene:

- Insulina subcutánea para la diabetes.
- Eutirox® VSD 100 mg para el hipotiroidismo.
- Rocaltrol® 1 comprimido al día para minimizar la hipocalcemia.
- Rosuvastatina 5 mg, 1 comprimido al día para disminuir el colesterol.

## 7. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

Debido a la heterogeneidad de manifestaciones clínicas de las enfermedades mitocondriales, se recomienda el manejo, diagnóstico y abordaje multidisciplinar de las mismas, debido a las dificultades que presentan y a la necesidad de individualizar su tratamiento.

La mutación m.3243A>G, una de las variantes patogénicas más comunes halladas en el ADNmt, afecta la estabilidad estructural del ARNt-Leu, lo que a su vez afecta la síntesis de proteínas de diferentes subunidades de los complejos OXPHOS.

Esta mutación se ha asociado a una variedad de síndromes del sistema nervioso tales como epilepsia mioclónica y fibras rojo-rasgadas (MERRF), síndrome de superposición MERRF/MELAS, síndrome de Leigh, miopatía mitocondrial (MM) y miocardiopatía hipertrófica. Además, como en nuestro caso, también es una de las causas más importantes de pérdida de audición materna y diabetes hereditaria. En este sentido, se ha descrito que hasta un 13% de portadores de m.3243A>G tienen una combinación de síntomas de MELAS y MIDD.

Sin embargo, la mutación m.3243A>G no se ha detectado en el síndrome de neuropatía, ataxia y retinitis pigmentosa (NARP) y rara vez se ha informado en pacientes con insuficiencia respiratoria potencialmente mortal. Todavía hay evidencias insuficientes para explicar la diversidad de fenotipos clínicos y la correlación fenotipo-genotipo.

La gran diversidad fenotípica que presenta la mutación m.3243A>G y la falta de correlación entre nivel de heteroplasmia y fenotipo hace que el asesoramiento genético, al igual que sucede en otras mutaciones del ADNmt, sea extremadamente complejo.

Recientemente, algunas investigaciones se centraron en el nivel de heteroplasmia, el fenotipo clínico y el pronóstico de los pacientes a largo plazo de la mutación m.3243A>G. En estos estudios se encontró que la heteroplasmia en sangre y orina y el número de copias de ADNmt estaban altamente asociados con la progresión de la enfermedad.

Por otra parte, diversos estudios clínicos avalan el importante rol que desempeña el óxido nítrico en la cascada de la cadena respiratoria, ya que al ser un potente vasodilatador, aumenta la capacidad aeróbica y el metabolismo muscular. Además, se han detectado niveles bajos de este precursor del aminoácido arginina en las enfermedades mitocondriales. Existen numerosos casos descritos de la efectividad del uso de arginina en el síndrome de MELAS (así como en otras patologías mitocondriales relacionadas), razón por la que el uso de arginina intravenosa como terapia de mantenimiento por vía oral se valoró y consideró como una buena opción terapéutica en este caso.

También hay estudios donde se determina que la L-citrulina (precursor del óxido nítrico) es beneficiosa para frenar la progresión de la enfermedad. No obstante, en nuestro caso, debido a que la arginina y la citrulina tienen un mecanismo

de acción similar, finalmente se optó por el tratamiento con arginina por su mayor accesibilidad. En cuanto a su uso, efectividad y seguridad, se han descrito pocos casos clínicos de pacientes con enfermedad mitocondrial en los que se haya utilizado este tratamiento, no existiendo estudios clínicos al respecto que avalen su utilización.

Otra estrategia terapéutica útil en fases agudas son los corticoides mediante «pulsos de dexametasona»; sin embargo, el uso crónico y prolongado de estos fármacos se asocia a una elevada prevalencia de corticorefractariedad, lo que se relaciona con la aparición de efectos adversos asociados.

## BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Li H-Z. A review of maternally inherited diabetes and deafness. *Front Biosci* [Internet]. 2014.
- El-Hattab AW, Almannai M, Scaglia F. MELAS. University of Washington, Seattle; 2018.
- Cataldo LR, Olmos P, Valerie Smalley S, Díez A, Parada A, Gejman R, et al. Mitochondrial DNA heteroplasmy of the m.3243A>G mutation in maternally inherited diabetes and deafness. *Rev Med Chil* [Internet]. 2013.
- Sampedro A, Barbón JJ, Álvarez JA, Andrés MA, Baldó C. Diabetes de herencia materna y sordera. *Arch Soc Esp Oftalmol* [Internet]. 2009.
- Guillén EC, Sánchez AC. Diabetes de herencia materna y sordera primer caso en Costa Rica. *Rev Clín Esc Med UCR-HSJD* [Internet]. 2018.
- Ali AS, Ekinci EI, Pylris F. Maternally inherited diabetes and deafness (MIDD): An uncommon but important cause of diabetes. *Endocr Metab Sci* [Internet]. 2021;2(100074):100074.
- Naing A, Kenchaiah M, Krishnan B, Mir F, Charnley A, Egan C, et al. Maternally inherited diabetes and deafness (MIDD): diagnosis and management. *J Diabetes Complications* [Internet]. 2014;28(4):542–6.
- Parikh S, Goldstein A, Koenig MK, Scaglia F, Enns GM, Saneto R, et al. Diagnosis and management of mitochondrial disease: a consensus statement from the Mitochondrial Medicine Society. *Genetics in Medicine*. 2015; 17(9): 689-701.
- Koenig MK, Emrick L, Karaa A, Korson M, Scaglia F, Parikh S, et al. Recommendations for the management of stroke-like episodes in patients with mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes. *JAMA Neurology*. 2016; 73(5): 591-594.
- Liu, G., Shen, X., Sun, Y., Lv, Q., Li, Y., & Du, A. (2020). Heteroplasmy and phenotype spectrum of the mitochondrial tRNA<sup>Leu</sup> (UUR) gene m.3243A>G mutation in seven Han Chinese families. *Journal of the Neurological Sciences*, 408(116562), 116562.

## 9- DOCTOR, ¿Y ESTO SE HEREDA? CUANDO LA RESPUESTA NO ES TAN SENCILLA COMO APARENTA

**Autor:** Rodrigo Gil Manso\*, María Sánchez Tabernero\*, Gonzalo Carreño Gómez-Tarragona.

*\*Ambos autores han colaborado de forma equitativa en la redacción del texto.*

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

**Palabras clave:** Leucemia, Germinal, RUNX1.

### 1. INTRODUCCIÓN

Las neoplasias hematológicas abarcan un grupo de trastornos que incluyen principalmente leucemias agudas, trastornos mielodisplásicos y mieloproliferativos, síndromes linfoproliferativos y discrasias de células plasmáticas. Los estudios genéticos y moleculares de estos trastornos son fundamentales para la comprensión de su patogenia y la optimización de métodos diagnósticos, así como para el desarrollo de nuevas medidas terapéuticas.

La mayoría de enfermedades asocian una o varias mutaciones de tipo somático, es decir, adquiridas a lo largo de la vida, que marcan eventos etiopatogénicos clave. Globalmente, se trata de enfermedades esporádicas y solo en una minoría de casos puede detectarse cierta agregación genética que no sigue patrones de herencia clásicos, si bien en años recientes se empiezan a distinguir una serie de entidades de base genética clara y herencia mendeliana. Es dentro de las neoplasias mieloides donde más reconocimiento se está encontrando a estas entidades de base germinal y así queda recogido en las clasificaciones de enfermedades neoplásicas más relevantes. A través de este caso clínico pretendemos mostrar la relevancia del diagnóstico de estas entidades no solo de cara a la descendencia sino también las opciones terapéuticas a manejar.

### 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

#### 2.1 Motivo de consulta:

Mujer de 46 años, remitida a Consultas de Hematología del Hospital Universitario 12 de Octubre para estudio de trombopenia moderada en torno a 80.000 plaquetas/ $\mu$ l, al menos desde 2014. Asocia en los dos últimos meses leucopenia de 2.500 leucocitos/ $\mu$ l a expensas de neutropenia moderada de 700 neutrófilos/ $\mu$ l y macrocitosis sin anemia (104,5 fl). El frotis de sangre periférica no muestra alteraciones significativas.

#### 2.2 Antecedentes personales:

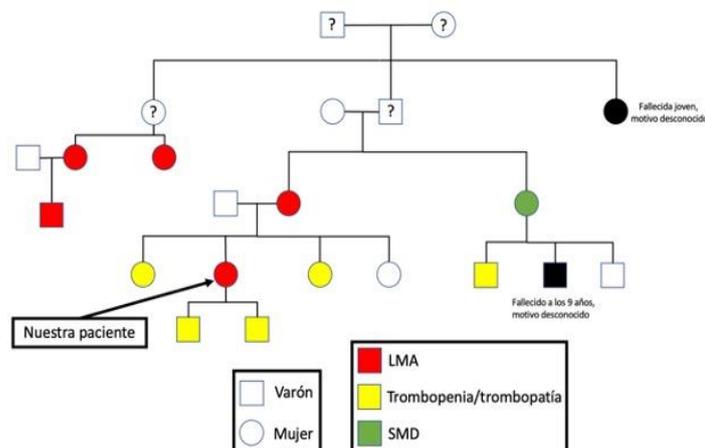
Entre los antecedentes personales, destacan:

- No factores de riesgo cardiovascular. No consumidora de tóxicos. No tratamiento domiciliario.
- Intervenciones quirúrgicas: cirugía de quiste endometrial en ovario izquierdo (mayo 2017) y salpingectomía derecha por embarazo ectópico (2007).

#### 2.3 Antecedentes familiares:

Madre con diagnóstico de leucemia mieloide aguda y fallecimiento en nuestro centro en 2018 con diagnóstico en ese mismo año; previamente presentaba trombopenia y trombocitopatía de larga data no filiadas.

Destaca también que en la rama materna de la familia existían varios casos adicionales de fallecimientos a edades tempranas con diagnósticos de síndrome mielodisplásico (SMD) y leucemia mieloide aguda (LMA), así como presencia de trombocitopenia/trombopatía (Figura 1).



**Figura 1.** Árbol genealógico de la paciente. Elaboración propia.

## 2.4 Enfermedad actual:

La anamnesis dirigida por aparatos no muestra hallazgos relevantes: niega clínica hemorrágica, fiebre, sintomatología constitucional y otros síntomas.

## 2.5 Exploración física.

Paciente consciente, orientada en las tres esferas y colaboradora. A la auscultación cardíaca, ruidos rítmicos sin soplos. A la auscultación pulmonar, murmullo vesicular conservado. Abdomen no doloroso, con ruidos normales conservados. Extremidades inferiores sin alteraciones.

## 3. INFORME DEL LABORATORIO Y PRUEBAS COMPLEMENTARIAS

El frotis de sangre periférica resulta anodino y no muestra rasgos displásicos.

Se decide realizar un aspirado de médula ósea para filiación de citopenias, detectándose una infiltración con 32% de blastos de hábito mielóide y no granulados, compatible con diagnóstico de LMA sin maduración (figura 2A). Asimismo, se realiza estudio citogenético que muestra un cariotipo tremendamente complejo, con células hipotetraploides (de 81 a 90 cromosomas), lo cual implica un alto riesgo genético (figura 2B).

Se realiza además como parte del estudio de biología molecular una secuenciación masiva de un panel de genes relacionados con patología mielóide (panel de elaboración propia del centro) mediante Next Generation Sequencing (NGS), destacando la presencia de una mutación puntual R166Q (sustitución de base guanina por adenina en la posición 497, que implica una sustitución del aminoácido arginina por glutamina en la posición 166 de la proteína) en el gen *runt-related transcription factor 1* (RUNX1), con una variante de frecuencia alélica (VAF) de aproximadamente el 50%, es decir que se detecta en el 50% del material genético

estudiado. Se detecta asimismo una segunda mutación c.497G>A (p.R166Q) con VAF del 11,44% en RUNX1, una mutación (c.346C>T; p.R116\*) con VAF del 13,08% en PHF6, una mutación (c.1648\_1649delAins6; p.Q549fs) con VAF del 7,89% en RAD21 y una mutación (c.629delC; p.P210fs) con VAF del 17,32% en BCOR.

A la vista del pedigrí de esta familia se revisan los estudios realizados al diagnóstico de la enfermedad de su madre, destacando la presencia de exactamente la misma mutación en el gen RUNX1 con VAF de aproximadamente el 50%, lo cual es altamente sugestivo de que se trate de una mutación de tipo germinal (presente al nacimiento en todas las células del organismo) y por tanto hereditaria.

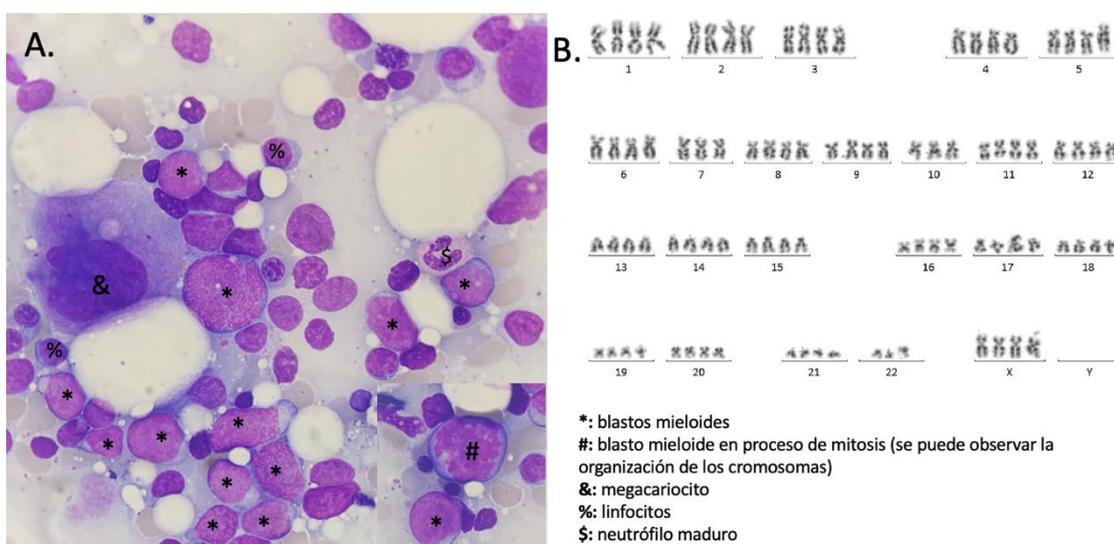
El resto de pruebas que se realizan:

- Electrocardiograma: ritmo sinusal a 80lpm, con ondas P positivs en aVR de morfología normal y similares entre sí, todas seguidas de QRS estrecho. Sin alteraciones en la repolarización ni en segmento ST.
- Ecocardiograma: estudio con resultado de límites normales.
- Serologías: sin infecciones activas. IgG de citomegalovirus, virus de Epstein-Barr, virus varicela-zóster y Toxoplasma positivas.

## 4. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

La paciente presenta una bicitopenia a expensas de neutropenia moderada (500-1.000 neutrófilos/ $\mu$ l) y trombopenia (recuento de plaquetas < 150.000 plaquetas/ $\mu$ l).

En el abordaje diagnóstico de la bicitopenia se debe tener en cuenta que el mecanismo puede ser periférico (hiperesplenismo, infecciones y enfermedades reumatológicas) o central, por reemplazo de la médula ósea (mielofibrosis, enfermedades infiltrativas), ausencia de la



**Figura 2.** A. Imagen citológica del aspirado de médula ósea de la paciente. Se observan abundantes blastos de variado tamaño, en el cuadrante inferior se puede observar uno en proceso de mitosis. Elaboración propia. B. Cariotipo de uno de estos blastos, se observa tetraploidía con pérdida de los cromosomas 7, 10 y 22. Servicio de Genética del Hospital 12 de Octubre.

misma (aplasia medular) o ineficiencia (SMD, estados carenciales). Se debe hacer, por tanto, hincapié en la presencia de sintomatología sugestiva de enfermedades sistémicas, procesos infecciosos, estado nutricional, ingesta de fármacos, drogas y exposición a tóxicos ambientales.

La presencia de reticulocitos elevados en sangre periférica orienta a un origen periférico, mientras que un recuento normal o bajo de reticulocitos es sugestivo de origen central. Asimismo, el frotis de sangre periférica puede mostrar hallazgos que orienten el diagnóstico, como células neoplásicas, hipersegmentación granulocítica, displasia, etc.

Se debe realizar un estudio analítico completo que incluya posibles elementos carenciales como perfil férrico, vitamina B12 y ácido fólico, así como marcadores de hemólisis (lactato deshidrogenasa, haptoglobina y bilirrubina indirecta), despistaje de gammapatía monoclonal (electroforesis y cuantificación de inmunoglobulinas) sin olvidar perfil renal, hepático, tiroideo y estudio de coagulación. En función de la sospecha inicial, se debe realizar también estudio de patología autoinmune y serologías virales que incluyan virus hepatotropos (hepatitis B y hepatitis C), virus Epstein-Barr, virus de la Inmunodeficiencia humana (VIH), citomegalovirus y parvovirus B19.

En relación con pruebas de imagen, se recomienda de forma habitual realizar una ecografía abdominal de cara a descartar esplenomegalia, hepatomegalia o signos de hepatopatía crónica y una radiografía de tórax para visualizar posibles alteraciones a nivel del mediastino.

En función de los resultados de las pruebas mencionadas previamente, se debe solicitar un estudio de médula ósea especialmente si se sospecha una entidad hematológica como causante de las citopenias; este estudio se puede complementar con despistaje microbiológico de *Mycobacterium tuberculosis* y *Leishmania spp.*

La tabla 1 recoge el diagnóstico diferencial básico de la bicitopenia/pancitopenia.

## 5. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

El diagnóstico de LMA tras la realización del aspirado de médula ósea levantó la sospecha de un posible origen germinal del cuadro. El estudio de biología molecular mediante NGS fue fundamental para detectar la misma mutación previamente detectada en el estudio de la patología de su madre, así como detectar mutaciones en otros genes relacionados en el proceso de leucemogénesis.

Por tanto la paciente fue diagnosticada de neoplasia mielóide de tipo LMA en relación con mutación germinal de RUNX1.

## 6. EVOLUCIÓN

La paciente ingresó para recibir tratamiento quimioterápico intensivo de inducción según esquema "3+7" (3 días de idarrubicina y 7 días de citarabina), seguido de 2 consolidaciones mediante citarabina a altas dosis, obteniendo tras cada uno de estos procedimientos una respuesta completa con enfermedad medible residual (detección de células tumorales mediante citometría de flujo de alta resolución) negativa. Las complicaciones durante

estos tratamientos fueron las habituales incluyendo problemas con accesos venosos, neutropenia febril, mucositis, etc.

Debido al alto riesgo genético de su LMA, la respuesta obtenida debía consolidarse mediante la realización de un trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) alogénico. Generalmente, el donante ideal para un TPH alogénico es un familiar HLA idéntico por el menor riesgo para desarrollar enfermedad de injerto contra receptor, si bien en este caso particular debía evaluarse la posibilidad de que sus familiares portaran también la mutación germinal problema.

Se estudió a sus 3 hermanas, resultando 2 de ellas HLA idénticas y detectándose la mutación de RUNX1 en ambas. La tercera hermana resultó haploidentica para con la paciente (presentan solo la mitad del HLA en común) y no portadora de la mutación. Al no detectarse ninguna hermana HLA idéntica "sana" se decidió llevar a cabo una búsqueda de donantes anónimos y se localizó un donante no emparentado HLA idéntico, lo cual permitió llevar a cabo el TPH alogénico sin incidencias.

Actualmente la paciente se encuentra sin inmunosupresión, con un injerto estable en situación de quimera completa (el 100% de su hematopoyesis es de origen en el donante) y mantiene un buen estado general, 24 meses tras el diagnóstico de la leucemia y 17 meses tras el trasplante alogénico.

## 7. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

RUNX1 es un gen que codifica un factor de transcripción (proteína que, mediante su unión al ácido desoxirribonucleico (DNA), es capaz de regular la transcripción de DNA a ácido ribonucleico (RNA) mensajero), necesario para que se produzca una correcta hematopoyesis<sup>1</sup>.

Las neoplasias mieloides de origen germinal son un grupo de trastornos bien establecidos y reconocidos en la Clasificación de las Neoplasias de Estirpe Hematolinfóide de la OMS de 2022<sup>2</sup> (Tabla 2) y la Clasificación de 2022 de la *European Leukemia Net*<sup>3</sup>, estableciéndose como síndromes hereditarios de predisposición al desarrollo de neoplasias de estirpe mielóide (y en ocasiones otros tumores/enfermedades). Uno de los más característicos es el grupo de trastornos plaquetarios con predisposición a neoplasias mieloides debidos a mutaciones autosómico dominantes en el gen RUNX1. Los pacientes manifiestan diversos grados de trombocitopenia y/o trombocitopatía (alteración de la función de la plaqueta, similar a la toma continuada de ácido acetilsalicílico) con riesgo de desarrollar, generalmente en la edad adulta (mediana de edad 33 años), LMA o SMD, todo ello debido a la desregulación de la hematopoyesis secundaria a la pérdida de función de RUNX1 (generalmente mutaciones que producen incapacidad de la proteína de unirse al DNA). El desarrollo de la neoplasia vendría relacionado con la selección de subclones que adquirieran otras mutaciones somáticas que culminaran en la célula neoplásica, lo cual explica que no todos los pacientes portadores desarrollen este tipo de complicaciones. Probablemente en nuestro caso la ganancia adicional de mutación de RUNX1 en el otro alelo y el resto de mutaciones fueran las responsables de la leucemogénesis.

<b>Infiltración o reemplazo de la médula ósea</b>	
<b>Neoplasias</b>	Leucemias agudas y linfomas
	Mielofibrosis con metaplasia mieloide
	Tumores sólidos metastásicos
	Mieloma múltiple
<b>No neoplasias</b>	Mielofibrosis secundaria
	Infecciones (tuberculosis miliar y fúngicas)
	Enfermedades por depósito
<b>Fallo de médula ósea</b>	
<b>Destrucción inmune/supresión</b>	Anemia aplásica
	Hemoglobinuria paroxística nocturna
	Tóxicos/medicamentos
	Leucemia de linfocitos grandes granulares
	Autoinmunes: lupus eritematoso sistémico, (LES) artritis reumatoide (AR), sarcoidosis.
	Linfohistiocitosis hemofagocítica
<b>Nutricional</b>	Megaloblástica (déficit de vitamina B12 o ácido fólico)
	Consumo excesivo de alcohol
	Malnutrición/anorexia nerviosa
	Otros (déficit de cobre y toxicidad por zinc)
<b>Supresión de médula ósea</b>	Infección vírica (VIH, Virus hepatitis B y C, VEB, etc.)
<b>Hematopoyesis ineficaz</b>	Síndromes mielodisplásicos
<b>Destrucción o secuestro</b>	
<b>Consumo</b>	Coagulación intravascular diseminada (asociación con sepsis y leucemia promielocítica)
<b>Esplenomegalia</b>	Hipertensión portal / cirrosis
	Infecciones (VEB)
	Autoinmunes (LES, AR, Síndrome de Feltz)
	Síndromes mieloproliferativos y linfoproliferativos
	Enfermedades por depósito

**Tabla 1.** Tomada y adaptada de Boán J. Íñiguez R. 84. Pancitopenia. Hemoterapia. Diagnóstico diferencial de la bicitopenia/pancitopenia.

<b>CLASIFICACIÓN DE LAS NEOPLASIAS MIELOIDES DE ORIGEN GERMINAL SEGÚN OMS 2022</b>
<b>Neoplasias mieloides con predisposición germinal sin disfunción orgánica o trastorno plaquetar preexistente</b>
Variante germinal P. o PP. en CEBPA
Variante germinal P. o PP. en DDX41 (puede asociar neoplasias linfoides)
Variante P. o PP. en TP53 (Síndrome de Li-Fraumeni)
<b>Neoplasias mieloides con predisposición germinal y trastorno plaquetar preexistente</b>
Variante germinal P. o PP. en RUNX1
Variante germinal P. o PP. en ANKRD26 Variante germinal P. o PP. en ETV6
<b>Neoplasias mieloides con predisposición germinal y posible disfunción orgánica</b>
Variante germinal P. o PP. en GATA2 (deficiencia de GATA2)
Síndromes de insuficiencia medular
Neutropenia congénita grave
Síndrome Shwachman-Diamond
Anemia de Fanconi
Trastornos teloméricos
RASopatías (neurofibromatosis tipo 1, síndrome CBL, síndrome Noonan, síndrome del espectro Noonan)
Síndrome de Down
Variante germinal P. o PP. en SAMD9 o SAMD9L
Variante germinal P. o PP. bialélica en BLM (síndrome de Bloom)

**Tabla 2.** Clasificación de las neoplasias mieloides de origen germinal según la Clasificación OMS de las Tumores de estirpe hematolinfoide 2022. Tomada y adaptada de: 3.

En relación con los familiares del caso raíz portadores de la mutación, no existen recomendaciones claras de cómo proceder, pues está claro que no todos los pacientes portadores de RUNX1 acabarán desarrollando neoplasias hematológicas (20-60%). En los casos donde no exista una alta sospecha de origen germinal pero no existan otras muestras familiares para comparar, es posible realizar estudio mutacional en células de origen distinto al hematopoyético como por ejemplo los fibroblastos, pues al tratarse de una mutación de origen germinal esta se encontrará en todos los tejidos del organismo. En los pacientes portadores de la mutación parece lógico realizar un seguimiento cada 6-12 meses y vigilar la aparición de citopenias, rasgo sugestivo de un fallo progresivo de la hematopoyesis que pueda culminar en SMD o LMA, de manera que pueda abordarse mediante un trasplante alogénico antes de que puedan aparecer complicaciones relacionadas con la enfermedad. Sí está clara la recomendación de consejo genético y un potencial diagnóstico preimplantacional con el fin de evitar seleccionar embriones portadores de esta mutación<sup>3</sup>.

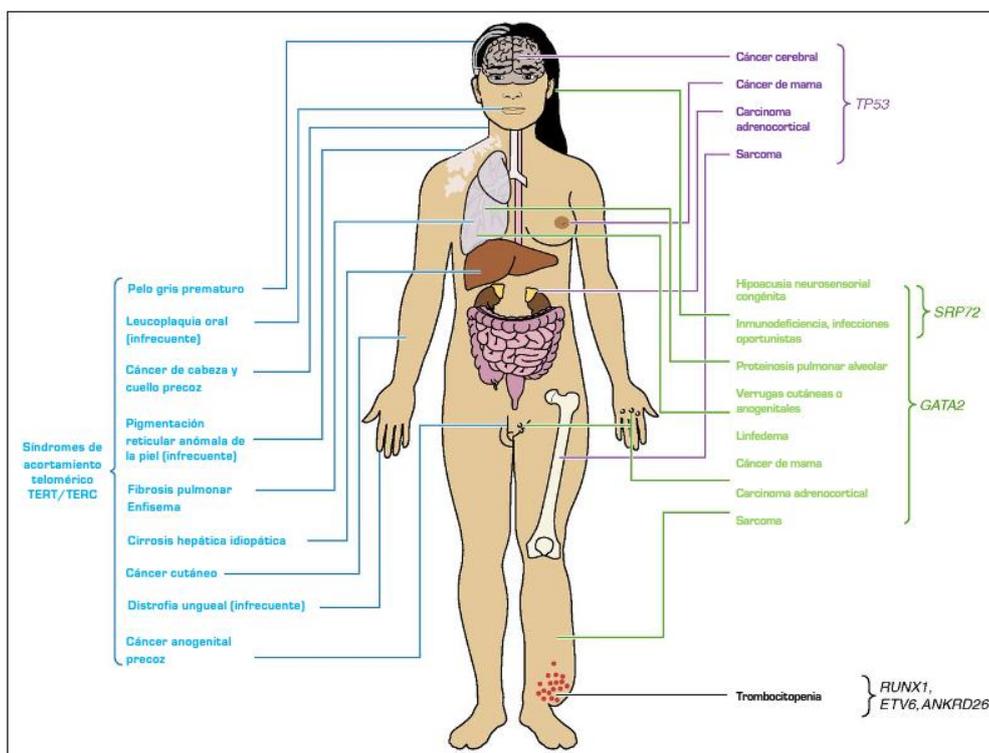
Por último destacar que, si bien en este caso las alteraciones quedan relegadas al sistema hematopoyético, en otros síndromes de neoplasias mieloides con mutaciones germinales pueden aparecer alteraciones a otros niveles, tanto en forma de cáncer como de manifestaciones benignas, por lo que será importante el trabajo multidisciplinar para el diagnóstico de estas entidades (Figura 3).

## BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Boán J. Íñiguez R. 84. Pancitopenia. Hemoterapia. En: Miguel E. et al. Autor/es del capítulo. Título del capítulo. En: Manual de Diagnóstico y Terapéutica Médica. 9ª ed. Madrid: MSD; 2022. 1277-1294.

## BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

- Hayashi Y, Harada Y, Huang G, Harada H. Myeloid neoplasms with germ line RUNX1 mutation. *Int J Hematol.* 2017 Aug;106(2):183-188.
- Khoury JD, Solary E, Abla O, Akkari Y, Alaggio R, Apperley JF et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of Haematolymphoid Tumours: Myeloid and Histiocytic/Dendritic Neoplasms. *Leukemia.* 2022 Jul;36(7):1703-1719.
- Döhner H, Wei AH, Appelbaum FR, Craddock C, DiNardo CD, Dombret H et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of the ELN. *Blood.* 2022 Sep 22;140(12):1345-1377.
- University of Chicago Hematopoietic Malignancies Cancer Risk Team. How I diagnose and manage individuals at risk for inherited myeloid malignancies. *Blood.* 2016 Oct 6;128(14):1800-1813.



**Figura 3.** Condiciones clínicas asociadas a mutaciones responsables de neoplasias mieloides por mutación germinal. Tomada y adaptada de: 4.

# 10- HALLAZGO INCIDENTAL MEDIANTE NGS EN EL GEN *FLCN* ASOCIADO AL SÍNDROME DE BIRT-HOGG-DUBÉ

**Autor:** Julia Sanz Gómez, María del Valle Romero Real, Beatriz Hidalgo Calero.

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

**Palabras clave:** Síndrome de Birt-Hogg-Dubé, hallazgo incidental, *FLCN*.

## 1. INTRODUCCIÓN

El síndrome de Birt-Hogg-Dubé (BHDS) es una enfermedad rara, de herencia autosómica dominante, que se encuentra asociada a mutaciones en el gen de la foliculina (*FLCN*), y que se caracteriza por la presencia de fibrofolículos, tricodiscosomas, quistes pulmonares, neumotórax espontáneos y diferentes tipos de tumores renales.<sup>1</sup> El diagnóstico molecular de este y de otros síndromes de predisposición al cáncer hereditario ha experimentado un cambio de paradigma con la introducción en el laboratorio clínico de las técnicas de Secuenciación de Nueva Generación o Secuenciación Masiva (NGS). Tradicionalmente, los estudios genéticos tendían a centrarse en la resolución de una pregunta específica. De esta forma, ante la sospecha clínica de una enfermedad monogénica, se realizaba un estudio limitado a uno o unos pocos genes concretos. Sin embargo, actualmente, las técnicas de NGS permiten detectar variantes en múltiples genes de forma simultánea. Dependiendo del objetivo del estudio, es posible dirigir el análisis hacia una selección o panel de genes, hacia el exoma o hacia el genoma completo. A pesar de la validez analítica de estas tecnologías, la enorme cantidad de datos que generan requiere de complejas herramientas bioinformáticas para la extracción de información útil, lo cual supone un incremento de la complejidad que conlleva su interpretación y el asesoramiento genético.

La disminución del coste de la secuenciación ha permitido la integración de la NGS en la práctica médica y su aplicación en múltiples contextos clínicos, como la caracterización molecular de enfermedades raras, la individualización del tratamiento oncológico, la farmacogenómica o el diagnóstico prenatal y preimplantacional. En todas estas aplicaciones, pueden darse hallazgos secundarios o incidentales, que son resultados que no se encuentran aparentemente relacionados con el objetivo inicial del estudio asociado al diagnóstico presuntivo del paciente. Debido al gran número de variantes que se detectan en los análisis mediante NGS y a la variabilidad de su utilidad clínica, la conveniencia, los aspectos éticos y la utilidad de reportar los hallazgos secundarios encontrados no ha sido un tema libre de controversia. Tanto la *American College of Medical Genetics (ACMG)*<sup>2</sup> como la *European Society of Human Genetics (ESHG)*<sup>3,4</sup> han establecido sus propias recomendaciones relativas a la comunicación de estos hallazgos en la práctica clínica. Además, con el objetivo de ayudar en la toma de decisiones a los genetistas, la ACMG ha propuesto una lista mínima de genes que deben ser reportados en el contexto de un hallazgo incidental en base a su accionabilidad médica.<sup>5</sup> No obstante, ambas organizaciones recomiendan y

coinciden en informar de estos hallazgos cuando existe una fuerte evidencia de su utilidad clínica. En este contexto, los hallazgos incidentales encontrados en el análisis mediante NGS pueden tener notables implicaciones para la salud del paciente y de sus familiares directos, y conducir a la toma de medidas preventivas y terapéuticas que conlleven un importante beneficio.

## 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

### 2.1 Motivo de consulta:

Varón de 24 años de edad, procedente del Hospital General Universitario Nuestra Señora del Prado (Toledo), recientemente diagnosticado de un adenocarcinoma colorrectal mucinoso, con inestabilidad de microsatélites, con pérdida de expresión de la proteína PMS2 por tinción inmunohistoquímica y sin metilación de la región promotora D del gen *MLH1*. El paciente es derivado al Hospital Universitario 12 de Octubre para recibir tratamiento. Dadas las características moleculares del tumor y el cumplimiento de los criterios de Bethesda, es remitido a la consulta de cáncer familiar para su valoración, donde se le solicita un estudio genético completo para descartar la presencia de un Síndrome de Lynch.

### 2.2 Antecedentes personales:

Sin antecedentes personales de interés conocidos.

### 2.3 Antecedentes familiares:

El paciente tiene un tío abuelo materno que fue diagnosticado de cáncer gástrico a los 70-75 años, así como una prima hermana materna y una prima hermana paterna diagnosticadas a los 50-55 años de cáncer de mama. Sus padres y su hermano de 32 años se encuentran sanos, y no tiene hijos ni sobrinos.

### 2.4 Enfermedad actual:

Paciente con un adenocarcinoma de colon derecho (pT4N0M1), intervenido con hemicolectomía derecha y en tratamiento con Nivolumab. El tejido tumoral muestra alta inestabilidad de microsatélites, pérdida de expresión de la proteína PMS2 por tinción inmunohistoquímica y no presenta metilación de la región promotora D del gen *MLH1*.

## 3. INFORME DEL LABORATORIO

Para estudiar la posible presencia en línea germinal de variantes puntuales (SNV, indels) y cambios en el número de copias (CNVs) de los genes asociados al Síndrome de Lynch (*MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2* y *EPCAM*), se realizó un

análisis mediante un panel de NGS sobre el ADN extraído de una muestra de sangre periférica. El enriquecimiento mediante el kit *Hereditary Cancer Solution de Sophia Genetics*, la secuenciación por síntesis de Illumina, y el posterior análisis bioinformático de los datos mediante el *software* Sophia-DDM, permitieron estudiar no solo las variantes presentes en los genes relacionados con el síndrome de Lynch, sino también en el resto de genes contenidos en el panel (Tabla 1).

Los resultados revelaron la presencia de dos variantes, que fueron clasificadas como patogénicas (Clase 5) conforme a los criterios de la *American College of Medical Genetics* (ACMG):

- La primera variante (*PMS2*: c.2404C>T p(Arg802\*), presente en el gen *PMS2* en heterocigosis, ha sido descrita en individuos afectados del Síndrome de Lynch. Esta mutación, localizada en el exón 14 del gen *PMS2*, implica la introducción de un codón de parada prematuro, que conduce presumiblemente a la formación de una proteína truncante.
- La segunda variante (*FLCN*: c.1579C>T p(Arg527\*), presente en el gen de la foliculina en heterocigosis, fue encontrada como hallazgo incidental, y ha sido descrita en pacientes diagnosticados con el Síndrome de Birt-Hogg-Dubé. Esta variante sin sentido, que se encuentra localizada en el exón 11 del gen *FLCN* (ver Figura 1), conduce a la pérdida del extremo C-terminal de la foliculina, a través del cual se sabe que interacciona con otras proteínas.

Finalmente, estos resultados fueron confirmados mediante secuenciación Sanger, considerada como técnica *gold standard*, en un laboratorio externo a nuestro centro.

#### 4. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

El paciente fue diagnosticado de dos síndromes de predisposición al cáncer hereditario: el Síndrome de Lynch y el Síndrome de Birt-Hogg-Dubé. Se detectaron en línea germinal dos variantes patogénicas en heterocigosis: la variante *PMS2*: c.2404C>T p.(Arg802\*) y la variante *FLCN*: c.1579C>T p.(Arg527\*), detectada como hallazgo incidental.

#### 5. EVOLUCIÓN

El paciente sigue en tratamiento y mantiene sus revisiones programadas en relación al seguimiento de su cáncer colorrectal. Tras el diagnóstico molecular, es sometido a un examen en el que no se encuentran claros estigmas cutáneos compatibles con fibrofolículos, tricodiscos u otras lesiones en cara y tronco asociadas al síndrome de Birt-Hogg-Dubé. El riesgo de cáncer renal asociado a la variante patogénica en el gen *FLCN* será vigilado mediante TCs periódicos que se le irán programando en la consulta de oncología. Por último, se informa a los padres y al hermano del paciente de la importancia de los hallazgos y de la conveniencia de acudir a las unidades de genética/ consejo genético en cáncer para recibir asesoramiento y realizar el genotipado de las variantes identificadas.

Lista de genes contenidos en el panel HCS de Sophia Genetics

ACD	BRCA2	<b>FLCN</b>	MLH3	PALB2	RAD50	SMAD4
AIP	BRIP1	GREM1	MRE11	PIK3CA	RAD51C	SMARCB1
AKT1	CDH1	HABP2	MSH2	<b>PMS2</b>	RAD51D	STK11
APC	CDK4	HOXB13	MSH3	POLD1	RET	SUFU
ATM	CDKN2A	MAX	MSH6	POLE	SDHA	TERF2IP
AXIN2	CHEK2	MC1R	MUTYH	POT1	SDHAF2	TERT
BAP1	DICER1	MEN1	NBN	PRKAR1A	SDHB	TMEM127
BARD1	EPCAM	MET	NF1	PRSS1	SDHC	TP53
BMPR1A	FAM175A	MITF	NF2	PTCH1	SDHD	VHL
BRCA1	FH	MLH1	NTHL1	PTEN	SLC45A2	XRCC2

Tabla 1. Panel de genes estudiado con el ensayo *Hereditary Cancer Solution de Sophia Genetics*. Elaboración propia

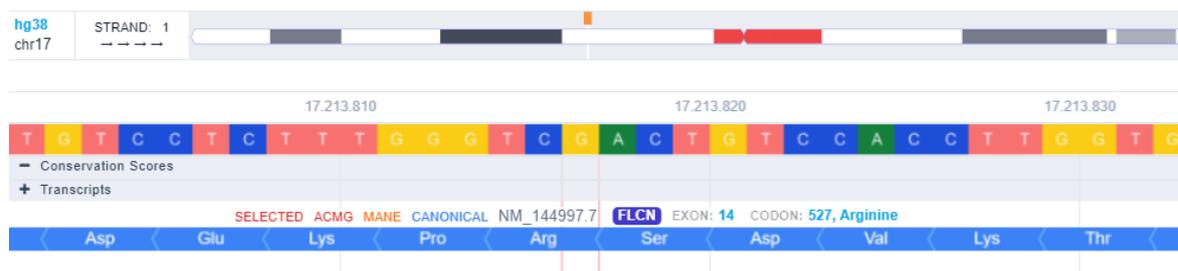


Figura 1. Visualización de la variante *FLCN*: c.1579C>T p.(Arg527\*) en el buscador Varsome. Tomado de Varsome.com.

## 6. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

El síndrome de Birt-Hogg-Dubé (BHDS) es una enfermedad genética de herencia autosómica dominante originada por la presencia de mutaciones en el gen de la foliculina. Aunque se estima que afecta a 1 de cada 200 000 personas<sup>6</sup> se desconoce su prevalencia exacta, y existen estudios que sugieren una incidencia significativamente mayor.<sup>7</sup>

El gen *FLCN* está formado por 3723 pb y 14 exones, y se encuentra localizado en el cromosoma 17p11.2. Codifica la foliculina, una proteína formada por 579 aminoácidos y 64kDa, que se expresa en muchos tejidos del organismo, entre los que se encuentran la piel, los riñones y el pulmón. La foliculina interviene en diversos procesos metabólicos y celulares que se encuentran frecuentemente alterados en el contexto de una neoplasia, como son la modulación de la vía Akt-mTOR, la regulación de PGC1 $\alpha$  y la biogénesis mitocondrial, la adhesión célula-célula y la actividad de Rho A, el control de la actividad transcripcional de TFE3/TFEB, la activación dependiente de aminoácidos de mTORC1 a través de Rag GTPasas en los lisosomas y la regulación de la autofagia. Sin embargo, las vías concretas en las que participa y que conducen al desarrollo de los rasgos fenotípicos característicos del BHDS aún no se han elucidado.<sup>8</sup>

La expresión fenotípica del síndrome de BHD es variable, y los síntomas no suelen aparecer, por lo general, hasta la edad adulta. Las lesiones cutáneas afectan en torno a un 58-90% de los pacientes, por lo que constituyen una de las manifestaciones clínicas más frecuentes. Entre las lesiones típicas se incluyen los fibrofoliomas, los tricodiscomas, los acrocordones, los angiofibromas y los fibromas perifoliculares. Por otra parte, el 69-90% de las personas afectas desarrollan quistes pulmonares y presentan un riesgo incrementado de experimentar neumotórax espontáneos. Los pacientes con BHDS también muestran una mayor predisposición que la población general al desarrollo de distintos tipos de tumores renales, entre los que destacan, por su frecuencia, el carcinoma de células renales cromóforo y las formas híbridas de oncocitoma y carcinoma cromóforo. Estos tumores suelen ser multifocales, bilaterales, y la edad media del diagnóstico se encuentra en torno a los 50,7 años de edad.<sup>9</sup>

Aunque también se han descrito otras manifestaciones clínicas poco frecuentes en las familias con BHDS (lipomas, adenomas paratiroideos, nódulos y tumores tiroideos y oncocitomas paratiroideos), no se ha podido esclarecer si se trata de rasgos fenotípicos asociados a la enfermedad o hallazgos incidentales.<sup>10</sup> Algunos estudios iniciales sugirieron una posible relación entre el desarrollo de pólipos de colon o de cáncer colorrectal y el BHDS. Sin embargo, otros trabajos posteriores parecen indicar que los pacientes con BHDS no presentan un riesgo incrementado respecto a la población general de desarrollar estas patologías.<sup>11, 12</sup>

Se han encontrado cerca de 150 mutaciones distintas en el gen *FLCN* en las familias afectadas por el BHDS. La mayoría son mutaciones con desplazamiento del marco de lectura (indels), mutaciones sin sentido o mutaciones que afectan al *splicing*, y que conducen al truncamiento y consecuente

inactivación de la proteína. Las más frecuentes son c.1285dupC y c.1285delC, que involucran la inserción o delección de una citosina en un tramo de 8 citosinas localizado en el exón 11, el cual ha sido considerado como un *hot spot* mutacional en el que la DNA polimerasa parece ser más proclive a cometer errores durante la replicación.

El gen *FLCN* es considerado un gen supresor de tumores según el modelo de Knudson. De esta forma, aunque los pacientes con BHDS presentan una mutación en *FLCN* en línea germinal, para que se produzca el desarrollo de un tumor, sería necesaria una segunda mutación somática que condujese a la pérdida de expresión total de la foliculina. Por otra parte, distintos estudios han demostrado que las mutaciones en el gen *FLCN* son poco frecuentes y no se encuentran asociadas al desarrollo de tumores esporádicos. Además, tampoco se ha demostrado que exista una clara correlación genotipo-fenotipo, aunque hay algunos estudios que revelan la presencia de algunas tendencias.<sup>8</sup>

Dada la heterogeneidad de los síntomas asociados al BHDS, cualquier combinación de las manifestaciones cutáneas, pulmonares o renales anteriormente indicadas debe considerarse sugestiva de esta patología. Ante la sospecha, siempre se debe ofrecer a los pacientes la posibilidad de confirmación mediante un estudio genético. En la Tabla 2 se recogen los criterios diagnósticos para el BHDS. Los pacientes deben cumplir uno de los criterios mayores o dos de los criterios menores para ser diagnosticados. No obstante, incluso en los casos en que el diagnóstico basado en las evidencias clínicas esté libre de ambigüedad, el estudio genético para la detección de mutaciones en *FLCN* también se encuentra recomendado. La importancia de este análisis radica no solo en la confirmación del diagnóstico en el paciente índice, sino también en la posibilidad de identificar a otros familiares afectados y ofrecerles consejo genético, del cual deriven importantes medidas de prevención y tratamiento.

### Criterios mayores

- Desarrollo en la edad adulta de cinco o más fibrofoliomas o tricodiscomas con confirmación histológica de al menos uno de ellos
- Mutación patogénica en el gen *FLCN* en línea germinal

### Criterios menores

- Presencia de múltiples quistes pulmonares, bilaterales, localizados en zona basal, asociados o no a un neumotórax espontáneo
- Desarrollo de cáncer renal de inicio temprano (<50 años) o multifocal o bilateral o de histología híbrida entre cromóforo y oncocítico.
- Familiar de primer grado con BHDS

**Tabla 2.** Criterios diagnósticos para el Síndrome de Birt-Hogg-Dubé. Los pacientes deben cumplir un criterio mayor o dos criterios menores para el diagnóstico.  
Adaptado de: Menko *et al*, 2009.

Debido a su mayor predisposición al desarrollo de tumores renales, se recomienda realizar un seguimiento a todos los portadores de mutaciones patogénicas en *FLCN* a partir de los 20 años de edad. Para ello, el método de elección es la realización anual de una resonancia magnética, aunque pueden emplearse otras técnicas, como la TC o la ecografía renal. Una vez diagnosticado el cáncer renal, se indicará una cirugía conservadora de la nefrona o nefrectomía parcial en función del tamaño, localización del tumor y velocidad de crecimiento.<sup>13</sup>

## BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

- # 135150. BIRT-HOGG-DUBE SYNDROME; BHD [Internet]. OMIM [citado 17 feb 2023]. Disponible en: <https://www.omim.org/entry/135150>
- Green RC, Berg JS, Grody WW, Kalia SS, Korf BR, Martin CL, et al. ACMG recommendations for reporting of incidental findings in clinical exome and genome sequencing. *Genetics in Medicine* 2013;15:565–74.
- Van El CG, Cornel MC, Borry P, Hastings RJ, Fellmann F, et al. Whole-genome sequencing in health care: Recommendations of the European Society of Human Genetics. *Eur J Hum Genet* 2013;21:580–4.
- Hehir-Kwa JY, Claustres M, Hastings RJ, Van Ravenswaaij-Arts C, Christenhusz G, Genuardi M, et al. Towards a European consensus for reporting incidental findings during clinical NGS testing. *Eur J Hum Genet* 2015;23:1601–6.
- Miller DT, Lee K, Abul-Husn NS, Amendola LM, Brothers K, Chung WK, et al. ACMG SF v3.1 list for reporting of secondary findings in clinical exome and genome sequencing: A policy statement of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG). *Genetics in Medicine* 2022;24(7):1407–14.
- Birt-Hogg-Dubé síndrome [Internet]. Orphanet. The Portal for Rare Diseases and Orphan Drugs. [citado 17 feb 2023]. Disponible en: [https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease\\_Search.php?lng=EN&data\\_id=8627&Disease\\_Search\\_diseaseGroup=Birt-Hogg-Dube-syndrome&Disease\\_Search\\_diseaseType=Pat&Disease\(s\)/group%20of%20diseases=Birt-Hogg-Dube-syndrome&title=Birt-Hogg-Dub%E9%20syndrome&search=Disease\\_Search\\_Simple](https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/Disease_Search.php?lng=EN&data_id=8627&Disease_Search_diseaseGroup=Birt-Hogg-Dube-syndrome&Disease_Search_diseaseType=Pat&Disease(s)/group%20of%20diseases=Birt-Hogg-Dube-syndrome&title=Birt-Hogg-Dub%E9%20syndrome&search=Disease_Search_Simple)
- Savatt JM, Shimelis H, Moreno-De-Luca A, Strande NT, Oetjens MT, Ledbetter DH, Martin CL, Myers SM, Finucane BM. Frequency of truncating *FLCN* variants and Birt-Hogg-Dubé-associated phenotypes in a health care system population. *Genet Med*. 2022;24(9):1857–1866
- Schmidt LS, Linehan WM. *FLCN*: The causative gene for Birt-Hogg-Dubé syndrome. *Gene*. 2018;640:28–42.
- Jensen DK, Villumsen A, Skytte A-B, Madsen MG, Sommerlund M, Bendstrup E. Birt-Hogg-Dubé syndrome: a case report and a review of the literature. *European Clinical Respiratory Journal*. 2017;4(1):1292378
- Schmidt LS, Linehan WM. Molecular genetics and clinical features of Birt-Hogg-Dubé syndrome. *Nat Rev Urol*. 2015;12(10):558–569
- Van De Beek I, Glykofridis IE, Wolthuis RMF, Gille HJJP, Johannesma PC, Meijers-Heijboer HEJ, Moorselaar RJAV, Houweling AC. No evidence for increased prevalence of colorectal carcinoma in 399 Dutch patients with Birt-Hogg-Dubé syndrome. *Br J Cancer*. 2020;122(4):590–594
- Zbar B, Alvord WG, Glenn G, et al. Risk of renal and colonic neoplasms and spontaneous pneumothorax in the Birt-Hogg-Dubé syndrome. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2002;11(4):393–400
- Menko FH, Van Steensel MA, Giraud S, Friis-Hansen L, Richard S, Ungari S, Nordenskjöld M, Hansen T vO, Solly J, Maher ER. Birt-Hogg-Dubé syndrome: diagnosis and management. *The Lancet Oncology*. 2009;10(12):1199–1206.

# 11- INSERCIÓN DE ELEMENTO MÓVIL EN UN PACIENTE AFECTO DE PARAPRESIA ESPÁSTICA COMPLEJA TIPO SPG11

**Autor:** Rubén Pérez de la Fuente, José Miguel Lezana Rosales.

Servicio de Genética, Hospital Universitario 12 de octubre, Madrid.

**Palabras clave:** SPG11, HSP, SVA.

## 1. INTRODUCCIÓN

Las paraparesias espásticas hereditarias (HSP) son un grupo muy heterogéneo de trastornos neurológicos que tienen en común la espasticidad (rigidez) de extremidades inferiores. El desarrollo de la enfermedad se debe al daño o la degeneración axonal de las fibras nerviosas que controlan el movimiento muscular de las extremidades inferiores, lo cual provoca una axonopatía dependiente de la longitud de las motoneuronas superiores corticoespinales. Las HSP se pueden manifestar principalmente de dos formas diferentes: formas “puras”, en las que están implicadas únicamente las extremidades inferiores y formas “complejas”, que además de manifestar la espasticidad en miembros inferiores poseen otras manifestaciones neurológicas y extraneurológicas. Los principales síntomas de las HSP son la dificultad para caminar, rigidez, espasticidad, debilidad muscular y disminución de la sensibilidad al dolor y a la temperatura en las extremidades inferiores. En algunos casos, también pueden presentarse otros síntomas, como incontinencia urinaria, problemas de visión o deterioro cognitivo<sup>1</sup>.

La etiología de las HSP es genética y se trata de trastornos de carácter progresivo, en el que el inicio de los síntomas es muy variable, pudiendo manifestarse desde la infancia o adolescencia hasta la edad adulta; aunque esto dependerá del tipo de paraparesia y del gen afectado. A día de hoy se han identificado más de 60 genes asociados a las HSP<sup>2</sup>, cuyas funciones son diversas (tráfico de membranas, función mitocondrial, biogénesis de orgánulos metabolismo de lípidos y colesterol) y están relacionadas con el correcto desarrollo y mantenimiento de los axones.

El gen *SPG11*, localizado en el cromosoma 15 (15q21.1), codifica la espatacsina, una proteína con un papel relevante en el crecimiento axonal neuronal, en la función y el tráfico de vesículas intracelulares que son esenciales para la transmisión de los impulsos nerviosos. Se han asociado 3 fenotipos diferentes relacionados con las alteraciones de este gen: Esclerosis lateral amiotrófica juvenil tipo 5 (MIM#602099), Charcot-Marie-Tooth axonal tipo 2X (MIM#616668) y paraparesia espástica tipo 11 (MIM#604360), todas ellas con un patrón de herencia autosómico recesivo.

## 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

### 2.1 Motivo de consulta:

Varón de 29 años, hijo de padres consanguíneos primos hermanos, remitido a la Unidad de Neuromuscular del Hospital 12 de Octubre. El paciente presentó retraso global

del desarrollo (CI 60), síntomas motores desde los 5 años de evolución progresiva. Actualmente precisa de silla de ruedas.

### 2.2 Antecedentes personales:

Embarazo controlado, hijo único. Fue al colegio hasta los 16 años y acabó 4º ESO con apoyo. Los primeros síntomas motores comenzaron a los 5 años donde refieren que torcía un pie. En casa camina con muletas o andador, desde hace 4 años requiere silla de ruedas fuera de casa.

### 2.3 Antecedentes familiares:

El paciente no presenta antecedentes familiares neurológicos de interés.

### 2.4 Enfermedad actual:

Principal sospecha de paraparesia espástica compleja tipo SPG11 y SPG15 como segunda opción.

### 2.5 Exploración física.

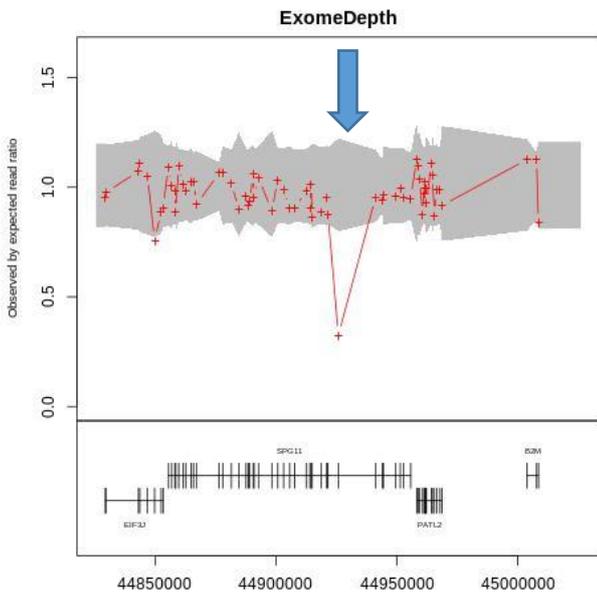
En la exploración neurológica se muestra disartria escándida, paraparesia espástica con piramidalismo importante en miembros inferiores y sutil dismetría en miembros superiores. En la resonancia magnética (2015) se observa atrofia importante del cuerpo caloso. Electromiograma (EMG) sin alteraciones, no se asocia una polineuropatía.

## 3. INFORME DEL LABORATORIO

Se remitió una muestra de sangre del paciente al Servicio de Genética del Hospital 12 de Octubre y, tras la extracción del ADN, se realizó la secuenciación del exoma completo en un secuenciador NextSeq-550 (*Illumina*), empleándose un kit de captura *xGen Exome Panel v2.0 de IDT Integrated DNA Technologies, Inc.* Los archivos FASTQ obtenidos se analizaron mediante un pipeline propio (*KarMa*) que genera un listado de variantes de secuencia y de número de copias (CNVs) anotadas, regiones de homocigosidad, reportes de calidad, de cobertura, etc. Todo ello fue interpretado mediante la aplicación JNOMICS, analizándose un panel virtual de 103 genes relacionados con paraparesia espástica hereditaria: *ABCD1, ADAR, AFG3L2, ALDH18A1, ALDH3A2, ALS2, AMPD2, AP4B1, AP4E1, AP4M1, AP4S1, AP5Z1, ARG1, ARL6IP1, ARSI, ATAD3A, ATL1, ATP13A2, ATP2B4, B4GALNT1, BICD2, BSCL2, BTBD, C12ORF65, C19orf12, CAPN1, CCT5, COASY, CPT1C, CTNNA1, CYP27A1, CYP2U1, CYP7B1, DARS, DDHD1, DDHD2, DNM2, DSTYK, ENTPD1, ERLIN1, ERLIN2, EXOSC3, FA2H, FARS2, FLRT1, FXN, GAD1, GALC, GBA2, GBE1, GCH1, GJC2, GRID2, HACE1, HSPD1, IBA57, KDM5C, KIF1A, KIF1C, KIF5A, KLC2, KLC4, L1CAM, L2HGDH, MAG, MARS,*

MARS2, NIPA1, NT5C2, PAH, PGAP1, PLP1, PNPLA6, RARS, REEP1, REEP2, RTN2, SACS, SETX, SLC16A2, SLC25A15, SLC33A1, SPART, SPAST, SPG11, SPG21, SPG7, SPR, TECPR2, TFG, TH, TLR2, TTR, TUBB4A, UBAP1, UCHL1, USP8, VAMP1, VPS37A, WASHC5, WDR48, ZFYVE26, ZFYVE27.

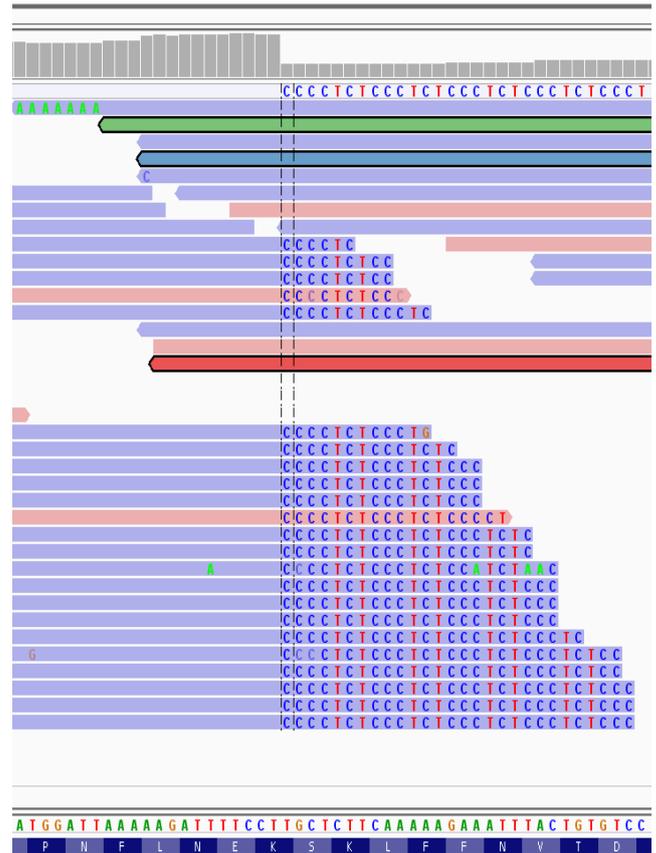
Tras el análisis del panel virtual no se encontraron variantes de secuencia de interés en ninguno de los genes. Mediante el análisis de CNVs (realizado mediante *ExomeDepth* en *KarMa*) se identificó un descenso importante en la cobertura del exón 8 del gen *SPG11* (NM\_025137.4). El número de lecturas de esa región con respecto de la línea de controles mostraba un ratio de lecturas observadas/esperadas de 0.3 (Figura 1).



**Figura 1.** Visualización mediante ExomeDepth del descenso de cobertura en el exón 8 del gen *SPG11* (NM\_025137.4)

La visualización del alineamiento en IGV en esta región evidenció unas características particulares, presentándose lecturas con una parte de la secuencia de carácter repetitivo que no estaba alineada con el genoma de referencia (presencia de *soft-clipping*). El descenso de cobertura con respecto a lo considerado como normal se debe a la existencia de lecturas con una proporción de secuencia repetitiva más elevada y que no han podido ser alineadas contra el genoma de referencia (Figura 2). Este hecho quedó patente tanto en los alineamientos generados con BWA-mem como con los que emplearon Bowtie2.

Tras el análisis del alineamiento y de la tabla de variantes sin filtrar (en JNOMICS sólo se analizan las variantes que superan determinados parámetros de calidad) se detectó una variante en esta región del exón 8, genotipada como c.1654\_1655insGGGAGAGGGG (p.Lys552ArgfsTer9). Cabe decir que el genotipado era impreciso (filtro “no PASS”) y sólo se evidenció con 1 de las 4 combinaciones de alineador-genotipador que utiliza *KarMa* (Bowtie2 + GATK).



**Figura 2.** Visualización mediante IGV (*Integrative Genome Viewer*) de la alteración. Parte de lecturas contienen secuencia consenso del exón 8 del gen y otra parte una secuencia de naturaleza repetitiva de citosinas y timinas.

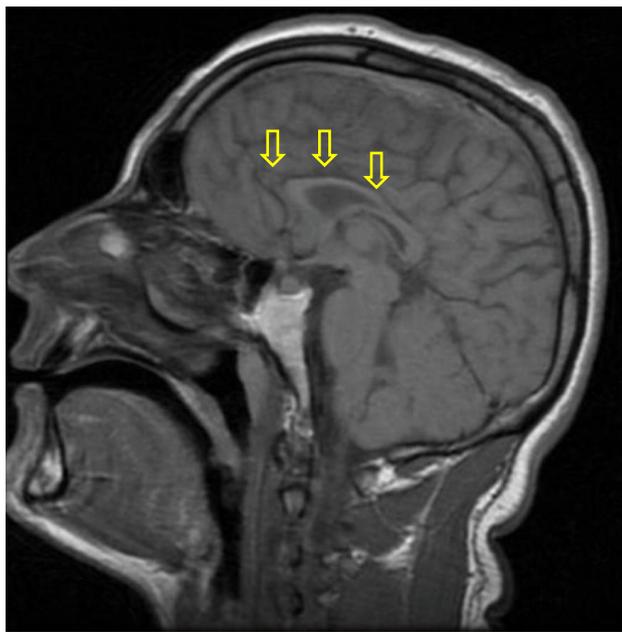
Con el fin de descartar posibles deleciones y/o duplicaciones se realizó en este gen un estudio mediante MLPA (*Multiplex Ligation dependent Probe Amplification*) que resultó normal. La sonda comercial para el exón 8 mostró un número de copias normal, lo cual descarta una deleción.

Con todas las evidencias y apuntando a una posible inserción aún por caracterizar, se diseñaron oligonucleótidos en la región flanqueante del exón 8 y, tras reiterados ensayos de PCR, no fue posible confirmar esta alteración en el ADN genómico del paciente, muy probablemente debido al gran tamaño del inserto.

Revisando las bases de datos, se encuentra descrita en la misma posición una inserción de un retrotrasposón en *ClinVar* (c.1668\_1669insSVAelement (ID: 870240)), que posiblemente fuera, si no el mismo, muy similar al que aparece en el paciente. Estas inserciones de retrotransposones (LINE1 (L1), Alu y SVA (SINE-VNTR-Alu)) en zonas codificantes ya se han descrito como mecanismo de enfermedad dando lugar a una pérdida de función del gen al alterar una región codificante y/o un sitio de *splicing* canónico<sup>3,4</sup>.

#### 4. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

La resonancia magnética muestra un importante adelgazamiento del cuerpo calloso (Figura 3).

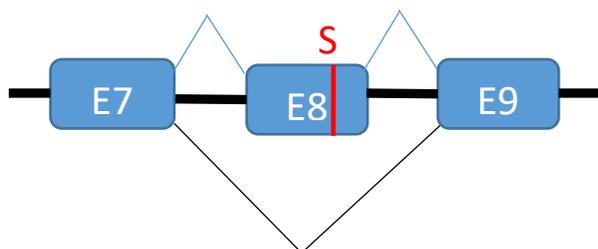


**Figura 3.** Adelgazamiento del cuerpo calloso en RM cerebral.

## 5. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Tras estos resultados y con el fin de obtener un diagnóstico molecular más preciso se decide citar en la consulta de asesoramiento genético a los padres y al paciente para explicar los hallazgos y las pruebas moleculares realizadas. Se manifestó a los padres el requerimiento de nuevas muestras de ambos progenitores y del paciente para poder confirmar esta posible alteración sobre ARN mensajero (ARNm). Se obtuvieron las muestras de los 3 miembros de la familia en tubos de heparina de litio y EDTA.

El estudio funcional sobre ARNm consistió en cultivar linfocitos de la sangre periférica de los 3 pacientes, extracción de ARNm (*Maxwell RSC simplyRNA blood kit, Promega*) y posteriormente la retrotranscripción a ADN codificante (*Reverse Transcription System, Promega*). Se diseñaron oligonucleótidos en los exones flanqueantes a la alteración, concretamente en los exones 6 y 10, para poder ver el perfil de transcripción del gen. Posteriormente, el producto de PCR se secuenció mediante Sanger y se identificó una pérdida completa (*skipping*) del exón 8 en homocigosis en el paciente y en heterocigosis en ambos progenitores (Figura 4).



**Figura 4.** Pérdida (*skipping*) del exón 8, estudio funcional sobre ARNm. La inserción del retrotrasposón SVA se encuentra indicada en rojo.

Se concluye que el paciente presenta la variante homocigota para la variante c.1668\_1669insSVAelement. Esta variante de tamaño no conocido provoca una pérdida completa del exón 8 en el procesamiento del ARNm del gen *SPG11*. Este resultado es compatible con el diagnóstico de paraparesia espástica tipo 11 con un patrón de herencia autosómico recesivo. Ambos padres son portadores asintomáticos de la patología.

Con estos hallazgos presentes, se redactó un informe de asesoramiento genético ya que el riesgo de recurrencia de la enfermedad es de un 25%. Se ofreció el estudio de portadores a los familiares directos de las ramas paterna y materna de cara a futura planificación familiar.

## 6. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

El diagnóstico diferencial de las paraparesias espásticas es muy amplio, entre ellos caben destacar formas de leucodistrofias (ej: adrenomieloneuropatía), también conviene descartar posibles anomalías estructurales o vasculares. Es recomendable realizar un estudio bioquímico, serológico e inmunológico para poder descartar posibles formas de paraparesia debidas a determinadas infecciones víricas o enfermedades autoinmunes. Un grupo amplio de enfermedades metabólicas y mitocondriales pueden cursar también con paraparesia espástica. Adicionalmente, hay que tener en cuenta determinadas formas de ataxias hereditarias como SCA3 (enfermedad de Machado-Joseph) que pueden mimetizar a la HPS incluso algunos tipos de demencia o parkinson de origen genético. Por todo ello el estudio genético resulta crucial en este tipo de patologías.

## 7. EVOLUCIÓN

La enfermedad es progresiva y actualmente no existe cura. Los tratamientos (fisioterapia, dispositivos de asistencia remota, ortopedia, sillas de ruedas, fármacos antiespásticos) se centran en mejorar en lo posible la calidad de vida de los pacientes. Actualmente el paciente se encuentra en tratamiento con baclofeno y toxina botulínica y tiene pendiente la implantación de una bomba intratecal.

## 8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

La paraparesia espástica tipo 11 (SPG11) tiene una prevalencia estimada de 1-9 casos por cada 1.000.000 de individuos dependiendo de la zona geográfica. Existe una alta variabilidad fenotípica, por lo que la gravedad, progresión y la edad de aparición de la SPG11 pueden variar, incluso entre individuos con la misma variante en el gen *SPG11*. Se trata de una forma compleja, por ello puede ir de la mano con los siguientes síntomas: discapacidad intelectual leve con dificultades de aprendizaje en la infancia y/o deterioro cognitivo progresivo, neuropatía periférica, afectación pseudobulbar y aumento de los reflejos en las extremidades superiores. Otros hallazgos menos frecuentes son: signos cerebelosos, degeneración de la retina, pie cavo, escoliosis y parkinsonismo con rasgos característicos en la resonancia magnética cerebral que incluyen el

adelgazamiento del cuerpo caloso. La enfermedad se manifiesta principalmente en la infancia o la adolescencia (rango de edad: 1-31 años) y, en raras ocasiones, hasta los 60 años. La mayoría de las personas afectadas requieren silla de ruedas una o dos décadas después del inicio de la enfermedad.

La SPG11 representa un 20% de las paraparesias espásticas de herencia autosómica recesiva y tan sólo un 10% de los pacientes con SPG11 se presenta de forma pura. Cuando se presenta como forma compleja junto con discapacidad intelectual y adelgazamiento del cuerpo caloso se debe de sospechar SPG11 como primera opción diagnóstica. La SPG15, causada por variantes patogénicas en el gen *ZFYVE26* es indistinguible de la SPG11, pero ésta primera es mucho menos frecuente.

Existe un gran espectro de variantes para el gen *SPG11*. Actualmente se encuentran 337 variantes patogénicas registradas en la base de datos HGMD (HGMD® Professional 2023.1), las cuales un 20% de los casos se deben a grandes reordenamientos (deleciones y/o duplicaciones). Ante una sospecha clínica elevada de paraparesia espástica con fenotipo complejo y estudio mediante secuenciación negativo se debe de valorar ampliar estudios moleculares como el MLPA para descartar este tipo de variantes.

#### BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. Blackstone C. Hereditary spastic paraplegia [Internet].

1st ed. Vol. 148, Handbook of Clinical Neurology. Elsevier B.V.; 2018. 633–652 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-444-64076-5.00041-7>

2. Kara E, Tucci A, Manzoni C, Lynch DS, Elpidorou M, Bettencourt C, et al. Genetic and phenotypic characterization of complex hereditary spastic paraplegia. *Brain*. 2016;139(7):1904–18.
3. Ostertag EM, Goodier JL, Zhang Y, Kazazian HH. SVA Elements Are Nonautonomous Retrotransposons that Cause Disease in Humans. *Am J Hum Genet*. 2003;73(6):1444–51.
4. Yamamoto G, Miyabe I, Tanaka K, Kakuta M, Watanabe M, Kawakami S, et al. SVA retrotransposon insertion in exon of MMR genes results in aberrant RNA splicing and causes Lynch syndrome. *Eur J Hum Genet* [Internet]. 2021;29(4):680–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41431-020-00779-5>

#### BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Stevanin G. Spastic Paraplegia 11. Seattle (WA): Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Gripp KW, Amemiya A; GeneReviews®; 2008 [updated 2019 Dec 19] [Internet]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1210/>
- Hedera P. Hereditary Spastic Paraplegia Overview. Seattle (WA): Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Gripp KW, Amemiya A; GeneReviews®; 2000 [updated 2021 Feb 11] [Internet]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1509/>

# 12- MUTACIÓN *DE NOVO* EN EL GEN *PMS2* EN UNA PACIENTE CON ADENOCARCINOMA DE ENDOMETRIO

**Autores:** Kateryna Sidak<sup>1</sup>, José Manuel Sánchez Zapardiel<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Servicio de Análisis Clínicos, Hospital Universitario Príncipe de Asturias, Alcalá de Henares

<sup>2</sup> Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

**Palabras clave:** Síndrome de Lynch, MLPA, *PMS2*

## 1. INTRODUCCIÓN

El síndrome de Lynch (OMIM#120435) es la forma más común de cáncer colorrectal hereditario, con una incidencia entre 2-3 % de todos los cánceres colorrectales (CCR), también se conoce como cáncer colorrectal hereditario no polipósico (HNPCC). Está causado por mutaciones germinales heterocigóticas en los genes de reparación de errores de emparejamiento del ADN (MMR): *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2* y también por la delección del extremo 3' del gen *EPCAM* que provoca la inactivación epigenética de la expresión del gen *MSH2*.<sup>1</sup> La herencia es autosómica dominante y tiene una penetrancia alta. Las mutaciones de los genes de MMR tienen un alto riesgo de desarrollar carcinomas colorrectales, neoplasias extracolónicas como endometrio, intestino delgado, uréter y pelvis renal, estómago, ovario, páncreas, vías biliares y cerebro, tumores, así como adenomas de glándulas sebáceas y queratoacantomas.<sup>2,3</sup> Los pacientes con síndrome de Lynch generalmente desarrollan cáncer colorrectal a una edad temprana (en promedio alrededor de 45 años), con un predominio del 70% en colon proximal/derecho.<sup>4</sup> Los individuos con mutaciones bialélicas en estos genes procedentes de ambos progenitores presentan el síndrome de deficiencia de reparación de desajuste constitutivo (CMMRD), que se caracteriza por la aparición de cánceres infantiles, incluidas las neoplasias malignas hematológicas, tumores cerebrales, cáncer colorrectal, poliposis y también presentan manchas de café con leche.<sup>5</sup>

## 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

### 2.1 Motivo de consulta:

Mujer de 44 años remitida desde Hospital Universitario de Getafe después de tratamiento de adenocarcinoma endometrial con hallazgo de déficit de expresión del gen *PMS2* en inmunohistoquímica para realizar el estudio genético de los genes de complejo MMR a nivel germinal.

### 2.2 Antecedentes personales:

Paciente no presenta alergias medicamentosas conocidas y niega hábitos tóxicos. Padece trastorno adaptativo mixto ansioso - depresivo en tratamiento con paroxetina y lorazepam y epilepsia desde hace 30 años sin ningún tratamiento en la actualidad. Estuvo en seguimiento por miomatosis uterina con metrorragias abundantes que mejoraron inicialmente después de miomectomías en dos ocasiones.

### 2.3 Antecedentes familiares:

Padre fue diagnosticado de cáncer de vejiga a los 71 años, abuela materna de cáncer de colon a los 52 años, abuelo materno de cáncer de pulmón a los 48 años y tía materna de mieloma múltiple a los 72 años.

### 2.4 Enfermedad actual:

Durante el proceso de técnica de reproducción asistida mediante ovodonación y como parte del estudio para implantación se realiza histeroscopia con biopsia endometrial, anatomía patológica compatible con hiperplasia endometrial compleja con atipia. Se repitió biopsia endometrial con resultado de hallazgos compatibles con adenocarcinoma endometrial de tipo endometriode grado 1: receptores estrógeno y progesterona +++, citokeratina 7: positivo, citokeratina 20: negativo, pérdida de expresión de PTEN, ki-67: 50%, p53: con áreas heterogéneas en algunas con sobreexpresión. Inmunohistoquímica para proteínas reparadoras con déficit de expresión de *PMS2*.

Tras comentar el caso en comité multidisciplinar se procede a histerectomía doble anexectomía y linfadenectomía aortopélvica en octubre de 2020. Anatomía patológica de adenocarcinoma endometrial de tipo endometriode, subtipo molecular microsatélite inestable/ hipermutado, grado 2 de la FIGO con infiltración del miometrio de más del cincuenta por ciento. Estadificación patológica pT1b estadio Ib pN0 L1. Posterior tratamiento ayudante mediante radioterapia pélvica.

## 3. INFORME DEL LABORATORIO

Dado los antecedentes oncológicos, así como el perfil de pérdida de expresión de *PMS2* por inmunohistoquímica se decide a hacer un estudio a nivel germinal en muestra de sangre con EDTA. Se realiza estudio genético mediante la preparación de librerías NGS panel 70 genes relacionados con cáncer hereditario (Hereditary Cancer Solution, Sophia Genetics) y posterior secuenciación en un secuenciador MiSeq (Illumina). Se analizan las variantes de un solo nucleótido, pequeñas inserciones y delecciones (SNVs/INDELs), así como variantes de número de copia (CNVs) en el software Sophia-DDM. Se analizan las variantes filtrando por los genes del complejo MMR para el panel de Síndrome de Lynch, que incluye genes *MLH1*, *MSH2*, *MSH6*, *PMS2* y *EPCAM*. Se encuentra una delección en el gen *PMS2* que se confirma posteriormente mediante

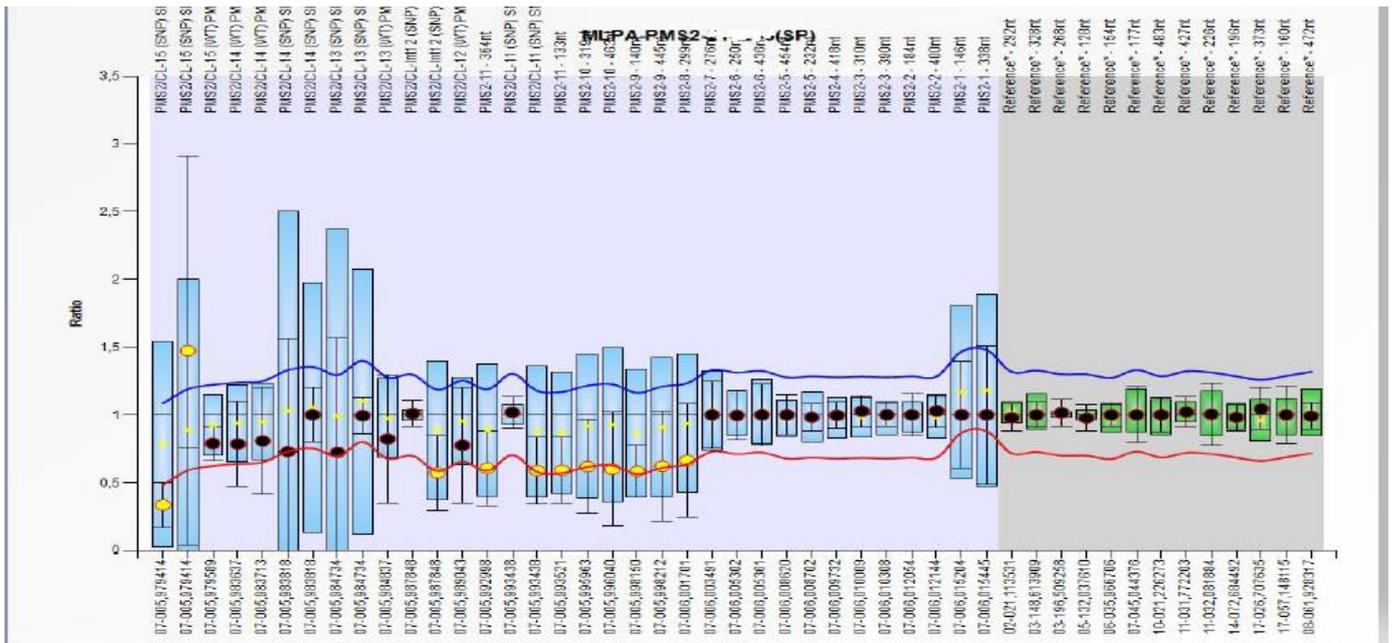


Figura 1. Resultados de MLPA. Elaboración propia.

amplificación de sondas dependiente de ligandos múltiples (MLPA). Se identifica una deleción de los exones de 8 a 11 en heterocigosis en el gen *PMS2* (Figura 1). Según los criterios de InSiGHT<sup>6</sup> se clasifica como clase 5 (patogénica) debido a que es una gran deleción que da como resultado una proteína truncante o posiblemente ausente mediante el mecanismo NMD.

#### 4. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

Se realiza la segregación de la variante encontrada en el caso índice en los familiares de primer grado (FPG) en dos muestras extraídas de manera independiente en todos los casos (ambos progenitores y hermana), siendo el resultado negativo para la deleción en todos ellos.

#### 5. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Gracias al hallazgo molecular, compatible con los antecedentes personales de la paciente, se ha podido llegar al diagnóstico de Síndrome de Lynch. Como el estudio de familiares de primer grado era negativo se puede concluir que la variante patogénica encontrada en la paciente es *de novo*, o como una explicación alternativa un mosaicismo gonadal que afecte únicamente a nivel germinal en alguno de los progenitores. Ambas opciones están descritas en la literatura, pero son muy infrecuentes y hasta la fecha no se han descrito para este gen.

#### 6. EVOLUCIÓN

La biopsia de linfadenopatía paraaórtica y linfadenopatía pélvica izquierda fue compatible con linfangioleiomiomatosis. La linfangioleiomiomatosis (LAM) es el crecimiento solapado, progresivo de células musculares lisas en los pulmones, los vasos sanguíneos y linfáticos pulmonares y las pleuras. Es rara y aparece en mujeres jóvenes. Los síntomas consisten

en disnea, tos, dolor torácico y hemoptisis; es frecuente el neumotórax espontáneo. El diagnóstico se sospecha por los síntomas y la radiografía de tórax y se confirma con una TC de alta resolución. El pronóstico es incierto, pero el trastorno es lentamente progresivo y en el transcurso de los años a menudo conduce a la insuficiencia respiratoria y la muerte. El tratamiento es la terapia con sirilimus o el trasplante pulmonar. En 2021 se realizó TC para descartar afectación pulmonar por LAM. Se objetivó un nódulo pulmonar solitario milimétrico en la zona apical del pulmón izquierdo sin proliferación cancerígena. En 2022 se detectó la recidiva vaginal del adenocarcinoma, se practicó la exéresis con márgenes más braquiterapia vaginal. Actualmente la paciente se encuentra libre de enfermedad con controles periódicos incluyendo colonoscopia y TC de tórax anual.

#### 7. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

El diagnóstico del síndrome de Lynch se basa en estudio de cribado previo a nivel tumoral (Inmunohistoquímica/Inestabilidad de microsatélites y metilación del promotor *MLH1*) y posterior confirmación con un análisis genético en la línea germinal. La alteración en el sistema de reparación del ADN tiene como consecuencia la acumulación de múltiples mutaciones que afectan a fragmentos repetitivos de ADN, que se denominan microsatélites. Cuando el sistema MMR no es capaz de reconocer y reparar estas mutaciones se desarrolla el fenómeno denominado inestabilidad de microsatélites (IMS) y la pérdida de expresión de la proteína correspondiente al gen mutado, detectable por inmunohistoquímica. Para evaluar los microsatélites se estudian siete marcadores con el kit OncoMate™ MSI Dx Analysis System (Promega). Cinco son marcadores quasimonómorficos, que en las células sanas tienen el mismo número de repeticiones: BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24, MONO-27 y otros son polimórficos porque el número de repeticiones es distinto para cada persona: Penta C y Penta D.<sup>7</sup> Se realiza una PCR multiplex marcada con distintos

fluoróforos y se resuelve mediante electroforesis capilar. Se considera que un tumor presenta alta IMS (IMS-H) si muestra inestabilidad en dos o más marcadores y baja IMS (IMS-L) si aparece en un marcador.

Dependiendo del patrón que se obtiene en inmunohistoquímica se hace el estudio genético de un gen o el otro. Tabla 1.

Patrón inmunohistoquímico en el CCR	Sospecha de mutación germinal
Pérdida de expresión de <i>MLH1/PMS2</i>	<i>MLH1</i>
Pérdida de expresión de <i>MSH2/MSH6</i>	<i>MSH2</i>
Pérdida de expresión de <i>MSH6</i>	<i>MSH6</i>
Pérdida de expresión de <i>PMS2</i>	<i>PMS2</i>
Expresión normal de las 4 proteínas	No sospecha de mutación

**Tabla 1.** Patrones de expresión proteica por inmunohistoquímica del sistema de reparación del ácido desoxirribonucleico. Adaptado de: Guía práctica clínica sobre el diagnóstico y prevención del cáncer colorrectal. 2018.

En el caso de pérdida de expresión proteica de *MLH1* y *PMS2* en inmunohistoquímica hay que asegurarse de que no es secundaria a la hipermetilación del promotor de *MLH1* sin que exista una mutación germinal, para diferenciarlo hay que determinar la presencia de mutaciones somáticas en el gen *BRAF* (V600E), ya que la presencia de mutación somática en este gen se asocia a los tumores con hipermetilación de *MLH1* y no está presente en el contexto de un síndrome de Lynch.

El gen *PMS2* (Post-Meiotic Segregation Increased 2), está situado en el brazo corto del cromosoma 7, concretamente en la región 22.2 (7p22.2). Este gen codifica la proteína *PMS2* que se une a la proteína *MLH1* para formar con ella el complejo proteico implicado en la reparación de errores de la replicación de ADN (MMR). Cuando existen mutaciones en el gen, se elabora una proteína anormal que no puede ejercer su acción correctamente. Las mutaciones de este gen se han encontrado en el 2% de pacientes afectados de Síndrome de Lynch<sup>3</sup>. El estudio del gen *PMS2* presenta una enorme dificultad técnica, debido a que presenta una elevada homología de secuencia por la presencia de una gran familia de pseudogenes localizados en el mismo cromosoma que el gen *PMS2*. Existen por lo menos 14 pseudogenes con una alta homología de secuencia en el extremo 5' de *PMS2* (exones 1–5), mientras en el extremo 3' de *PMS2* (exón 9 y 11-15) se encuentra el otro pseudogen (*PMS2CL*) que tiene muy alta homología de secuencia con el gen *PMS2*<sup>8</sup>. Siempre hay que confirmar que la variante encontrada está en el gen y no en pseudogen, en caso contrario no tiene ningún significado clínico.

Existen criterios clínico-familiares para la detección de familias afectadas por el Síndrome de Lynch. Se revisan todos ellos a continuación:

- Criterios de Ámsterdam I:
    - Mínimo 3 individuos con CCR:
      - Uno de los afectados es FPG de los otros 2.
      - Mínimo 2 generaciones consecutivas afectas.
      - Mínimo 1 caso diagnosticado antes de los 50 años.
      - Exclusión del diagnóstico de poliposis adenomatosa familiar.
      - Confirmación histológica de las neoplasias.
  - Criterios de Ámsterdam II:
    - Mínimo 3 individuos con CCR o tumor asociado a Lynch (endometrio, estómago, ovario, páncreas, uréter y pelvis renal, tracto biliar, glioblastoma, adenomas sebáceos, queratoacantomas e intestino delgado):
      - Uno de los afectados es FPG de los otros 2.
      - Mínimo 2 generaciones consecutivas afectas.
      - Mínimo 1 caso diagnosticado antes de los 50 años.
      - Exclusión del diagnóstico de poliposis adenomatosa familiar.
      - Confirmación histológica de las neoplasias.
  - Criterios revisados de Bethesda:
    - Paciente con CCR diagnosticado ≤ 50 años.
    - CCR sincrónico o metacrónico u otro tumor asociado a Lynch\*, independientemente de la edad del diagnóstico.
    - Paciente con CCR con histología de tumor con IMS diagnosticado antes de los 60 años.
    - Paciente con CCR con 1 o más FPG con un tumor asociado a Lynch\* diagnosticado ≤ 50 años
    - Paciente con CCR con 2 o más FPG o de segundo grado con un tumor asociado a Lynch\*, independientemente de la edad.
- Tumores asociados a Lynch: CCR, endometrio, estómago, ovario, páncreas, uréter y pelvis renal, tracto biliar, cerebral (glioblastoma), adenomas sebáceos, queratoacantomas e intestino delgado.
- Recomendaciones de Jerusalén:
    - Análisis molecular tumoral (IMS y/o inmunohistoquímica) en todo CCR diagnosticado ≤70 años de edad.
  - Estrategia universal:

- Análisis molecular tumoral (IMS y/o inmunohistoquímica) en todo CCR independientemente de la edad.

Los criterios Ámsterdam I y II son altamente específicos de la presencia de cáncer familiar, sin embargo, dejan fuera casos de familias reducidas o para las que existe poca información <sup>7</sup>. Los criterios Bethesda, en cambio, son más sensibles, si bien arrojan numerosos falsos positivos. Los criterios de Jerusalén recomiendan hacer análisis molecular tumoral en todo paciente diagnosticado de CCR < 70 años. También existe estrategia universal según cual se realiza estudio a todos pacientes diagnosticados de CCR independientemente de edad del diagnóstico.

El seguimiento mediante colonoscopia está recomendado y ha demostrado disminuir la incidencia de cáncer y prolongar la supervivencia en los pacientes con el síndrome de Lynch. Se recomienda el seguimiento con colonoscopia en portadores de mutación de *PMS2* a partir de los 35-40 años y realizarla cada 2-3 años.<sup>9</sup> La evidencia de la ecografía transvaginal y aspirado endometrial en las mujeres portadoras de una mutación del síndrome de Lynch es insuficiente en cuanto a reducir la mortalidad, aunque habitualmente se indica su realización anualmente a partir de los 30-35 años de edad.<sup>9</sup>

#### BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. Biller LH, Syngal S, Yurgelun MB. Recent advances in Lynch syndrome. *Fam Cancer*. 2019;18: 211-219.
2. Nolano A, Medugno A, Trombetti S, Liccardo R, De Rosa M, Izzo P, Duraturo F. Hereditary Colorectal Cancer: State of the Art in Lynch Syndrome. *Cancers (Basel)*. 2022; 15: 75.
3. Krüger, S., Kinzel, M., Walldorf, C., Gottschling, S., Bier, A., Tinschert, S., von Stackelberg, A., Henn, W., Görgens, H., Boue, S., Köble, K., Büttner, R., & Schackert, H. K. Homozygous *PMS2* germline mutations in two families with early-onset haematological malignancy, brain tumours, HNPCC-associated tumours, and signs of neurofibromatosis type 1. *European journal of human genetics: EJHG*, 2008; 16: 62–72.
4. Boyle, T.; Keegel, T.; Bull, F.; Heyworth, J.; Fritschi, L. Physical Activity and Risks of Proximal and Distal Colon Cancers: A Systematic Review and Meta-analysis. *Gynecol. Oncol.*2012; 104: 1548–1561.
5. Vaughn CP, Hart KJ, Samowitz WS, Swensen JJ. Avoidance of pseudogene interference in the detection of 3' deletions in *PMS2*. *Hum Mutat*. 2011; 32: 1063-1071
6. InSiGHT's Mismatch Repair Gene Variant Classification documentation (Version 2.4, June 2018, disponible en: [https://www.insight-group.org/content/uploads/2018/08/2018-06\\_InSiGHT\\_VIC\\_v2.4.pdf](https://www.insight-group.org/content/uploads/2018/08/2018-06_InSiGHT_VIC_v2.4.pdf)).
7. Guía de práctica clínica Diagnóstico y prevención del cáncer colorrectal, 2018. Disponible en: <https://www.aegastro.es/documents/pdf/Diagn%C3%B3stico-y-Prevenci%C3%B3n-del-C%C3%A1ncer-colorrectal.pdf>
8. Clendenning M, Hampel H, LaJeunesse J, et al. Long-range PCR facilitates the identification of *PMS2*-specific mutations [published correction appears in *Hum Mutat*. 2006; 27: 490-495.
9. SEOM. Cáncer hereditario. 3ª ed. 2019. Disponible en: [https://seom.org/images/Libro\\_Cancer\\_hereditario\\_2019.pdf](https://seom.org/images/Libro_Cancer_hereditario_2019.pdf)

# 13- SÍNDROME DE DEFICIENCIA CONSTITUCIONAL DE REPARACIÓN DE ERRORES DE APAREAMIENTO DEL ADN (CMMRD): A PROPÓSITO DE UN CASO

**Autores:** Esther Carolina Tamayo Hernández, José Manuel Sánchez Zapardiel.

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

**Palabras clave:** Cáncer Hereditario, Lynch, CMMRD

## 1. INTRODUCCIÓN

El cáncer o desarrollo tumoral se caracteriza por un crecimiento excesivo y descontrolado de un grupo de células que invaden y dañan tejidos y órganos. El cáncer es una enfermedad genética, aunque en su mayoría lo es de forma esporádica y excepcionalmente hereditaria. Se estima que en torno al 5% del total de neoplasias tienen su origen en mutaciones germinales que predisponen a su desarrollo siguiendo un patrón de herencia mendeliano.

A lo largo de los años, se han descrito multitud de genes que cuando se encuentran mutados predisponen a la aparición de cáncer. Así ocurre con los genes *MLH1*, *MSH2*, *MSH6* y *PMS2* que codifican proteínas del sistema *mismatch repair* (MMR). Este sistema actúa después de la replicación del ADN reconociendo pequeños "loops" debidos a inserciones/delecciones o mutaciones puntuales. Cuando estas proteínas detectan un apareamiento incorrecto, activan exonucleasas, polimerasas y ligasas, que escinden, sintetizan el nucleótido correcto y lo unen de nuevo a la cadena previamente sintetizada. Se calcula que un déficit en las proteínas MMR produce un incremento entre 100 y 1000 veces la tasa de mutación con respecto a un tejido MMR funcional.

Así, la presencia de mutaciones germinales monoalélicas en los genes que codifican para las proteínas MMR definen el llamado síndrome de Lynch. Dicho síndrome, también conocido como Cáncer Colorrectal Hereditario no Polipósico (CCRHNP), es un síndrome genético, heterogéneo, con patrón de herencia autosómico dominante y penetrancia incompleta que predispone al desarrollo de cáncer colorrectal en adultos, además de otras neoplasias extracolónicas como el cáncer de endometrio, ovario, intestino delgado, estómago, uréter, vía biliar, páncreas, próstata, entre otros. Este síndrome, de elevada prevalencia (1/270), es causa del 1-3% del total de casos de cáncer colorrectal y del 0,8-1,4% de casos de cáncer de endometrio.

Por otro lado, cuando los dos alelos de un gen que codifica para una proteína MMR se encuentran mutados a nivel germinal se establece el diagnóstico de Síndrome de Deficiencia Constitucional de Reparación de Errores de Apareamiento del ADN (Congenital Mismatch Repair Deficiency, CMMRD). Se trata de un síndrome de muy baja prevalencia (1/1000000), con patrón de herencia autosómico recesivo y potencialmente devastador por su asociación con diversos tipos de cáncer infantil, siendo los más prevalentes glioblastomas, neoplasias hematológicas y cáncer de colon.

## 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

### 2.1. Motivo de consulta:

Presentamos el caso de un varón de 26 años que se encuentra en seguimiento en nuestro hospital para el control de una serie de adenomas hepáticos detectados en 2017. En lo que respecta a su analítica de bioquímica, todos los parámetros se encuentran dentro del intervalo de referencia salvo una leve hiperbilirrubinemia a expensas de la indirecta, en probable asociación con síndrome de Gilbert.

Se le solicita un test de sangre oculta tras haber referido cambios en la coloración de las heces. Tras confirmarse el resultado positivo de sangre oculta, se le realiza una colonoscopia y una biopsia, confirmándose el diagnóstico de adenocarcinoma colorrectal de bajo grado multifocal.

Por la edad del paciente se plantea la posibilidad de que se trate de un caso de cáncer hereditario de colon no polipósico o, también llamado, síndrome de Lynch.

### 2.2. Antecedentes personales previos:

A los 7 años se le diagnosticó un linfoma de tipo No Hodgkin, de tipo Burkitt, que acabó en recidiva años más tarde. A los 22, presentó un melanoma que, al detectarse temprano, presentaba únicamente extensión superficial por lo que se intervino rápidamente sin complicaciones.

### 2.3. Antecedentes familiares:

No hay antecedentes familiares de cáncer de colon registrados.

## 3. INFORME DE LABORATORIO

Puesto a que el síndrome de Lynch se debe a la inactivación de los genes que codifican para proteínas del sistema *mismatch repair*, el cribado de este síndrome se realiza evaluando dicho sistema sobre una muestra endoscópica fresca de colon del paciente.

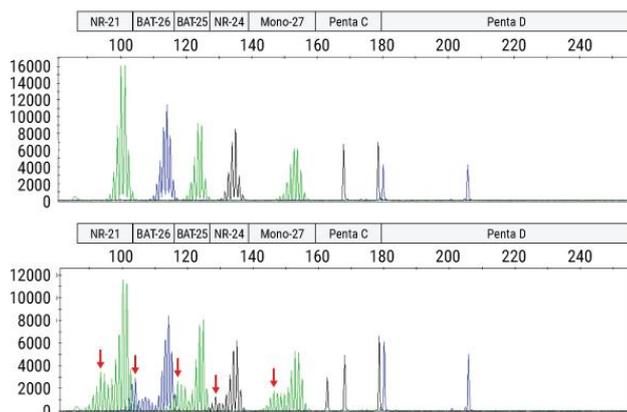
Por un lado, se realiza una prueba de inmunohistoquímica, mediante la cual detectamos la presencia de las proteínas MMR y, por otra parte, se evalúa la inestabilidad de microsatélites, en la cual evaluamos la funcionalidad del sistema MMR. La detección de microsatélites inestables en el tumor indica que no hay un funcionamiento adecuado del sistema mismatch repair, lo que orientaría a un posible síndrome de Lynch.

### 3.1. Inestabilidad de microsatélites:

Los microsatélites son repeticiones en tándem de mono- o dinucleótidos, lo que los convierte en zonas muy susceptibles a mutación, donde resulta sencillo valorar si el sistema MMR está realizando o no su función correctora. Para ese objetivo, resulta fundamental que los microsatélites evaluados sean quasimonomórficos, es decir, que el número de repeticiones sea constante en la población. Los microsatélites quasimonomórficos que se estudian en nuestro hospital son BAT-25, BAT-26, NR-21, NR-24 y MONO-27. Como son microsatélites muy conservados en lo que a número de repeticiones se refiere, un cambio en el número de repeticiones de los mismos se asocia a un déficit en el funcionamiento del sistema MMR. Además de estos, se estudian dos microsatélites polimórficos (Penta C y Penta D), en los que el número de repeticiones es muy variable en cada persona, por lo que se utilizan a modo de “huella genética”.

Para su análisis, se realiza una PCR múltiplex con cebadores fluorescentes y después una electroforesis capilar donde los fragmentos amplificados se separan por tamaño, es decir, por número de repeticiones del microsatélite. Así, se considera que un microsatélite es estable cuando obtenemos una campana de gauss simétrica en torno a un número de repeticiones estable. Si, por el contrario, aparece una distribución asimétrica (con cola, o dos campanas de Gauss por microsatélite) se considera que el microsatélite es inestable, lo que a su vez implica que ha habido errores en la replicación que no han sido subsanados por el sistema MMR.

En la siguiente imagen, la primera electroforesis pone de manifiesto un panel estable, donde cada uno de los microsatélites quasimonomórficos presenta una campana de Gauss simétrica. Por el contrario, en la siguiente electroforesis capilar, se observa una clara inestabilidad de microsatélites, donde la asimetría de cada uno de los cinco microsatélites es notable.



**Figura 1.** PCR-based MSI test showing microsatellite instability. LGC Biosearch. Consultado en: [researchgate.net](http://researchgate.net)

Se considera que un tumor presenta alta inestabilidad de microsatélites (IMS-H) si muestra inestabilidad en 2 o más marcadores y baja IMS (IMS-L) si solo es inestable uno de

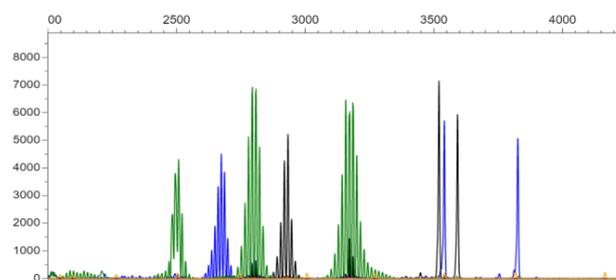
los marcadores. Cuando solo se aprecia inestabilidad en uno de los microsatélites, además del tejido tumoral se analiza la sangre del paciente, de tal manera que se pueda diferenciar si se trata de una inestabilidad real o, por el contrario, el paciente presenta un polimorfismo en el número de copias de ese microsatélite. Se considera polimorfismo cuando la distribución asimétrica del marcador aparece tanto en el tejido tumoral como en sangre periférica, mientras que será una inestabilidad baja (IMS-L) cuando el microsatélite sea inestable en el tumor y estable en sangre.

### 3.2. Inmunohistoquímica:

Esta técnica se basa en la unión de anticuerpos a proteínas, demostrando así la presencia o no de las mismas en el tejido en cuestión. En este caso particular, se utiliza un anticuerpo primario que se une directamente a la proteína del sistema MMR. Después, se une un anticuerpo secundario que hibrida con la región constante del anticuerpo primario. Para que esta unión sea detectable, se utiliza como enzima la peroxidasa de rábano picante (HRP) cuya acción sobre la diaminobencidina (DAB) produce un precipitado color marrón que indica la presencia de la proteína.

### 3.3. Resultados del paciente:

En el estudio de inestabilidad, el paciente obtuvo una inestabilidad baja, pues presentó inestabilidad solo en uno de los 5 microsatélites estudiados. Se pueden ver sus resultados de la electroforesis capilar en la siguiente imagen:



**Figura 2.** Resultados del estudio de inestabilidad del paciente. Fuente: Imagen propia

Por otro lado, en la inmunohistoquímica se detectó la presencia de las proteínas MLH-1, MSH-2 y MSH-6, mientras que PMS-2 no se detectó ni en la neoplasia ni en las células no tumorales, hallazgo muy sugestivo de síndrome de deficiencia de reparación constitutivo (CMMRD).

## 4. DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES

Tanto el síndrome de Lynch como el CMMRD se diagnostican por la presencia de variantes patogénicas en genes que codifican para proteínas del sistema MMR. Cuando la variante se encuentra en heterocigosis, es decir, el paciente tiene mutado un único alelo, se habla de síndrome de Lynch. Si por el contrario, presenta la misma variante patogénica en homocigosis, o bien, presenta dos variantes patogénicas

distintas (heterocigosis compuesta), una en cada alelo, se establece el diagnóstico de CMMRD.

En lo que respecta al síndrome de Lynch, al producirse por mutaciones germinales monoalélicas, presenta herencia autosómica dominante. En este caso, los pacientes van a heredar una primera mutación por línea germinal y después, eventualmente, se produciría una segunda mutación somática en el tejido que daría lugar al cáncer. Es por ello, que la inmunohistoquímica desvela la presencia de la proteína MMR en el tejido sano, pero no en el tumor. El síndrome de Lynch incrementa notoriamente el riesgo de neoplasias en adultos, siendo la más frecuente el cáncer de colon, aunque también se asocian neoplasias de endometrio, ovario y estómago.

En el caso del síndrome de deficiencia de reparación constitutivo (CMMRD), el paciente presenta mutaciones germinales bialélicas, lo que determina un patrón de herencia recesivo. La prevalencia es muy baja, estimándose un caso por cada millón de personas. En este caso, al presentar dos alelos mutados en la línea germinal, la proteína MMR en cuestión se encontrará inactiva en todos los tejidos del individuo. Es por ello que en la inmunohistoquímica no hay expresión de la proteína ni en el tejido sano ni en el tumoral.

## 5. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

Debido a la alta sospecha de CMMRD, se le realiza un estudio completo, mediante la tecnología de secuenciación masiva (NGS). En este estudio de NGS, se analizan los genes asociados a cáncer de colon hereditario no polipósico.

Del total de variantes detectadas en el panel, destaca una variante puntual en el gen *PMS2*, que codifica para la proteína que no presentaba expresión la inmunohistoquímica de nuestro paciente. Esta variante (*PMS2*: c.1A>Cp.(Met1?)) produce un cambio en la secuencia de la metionina iniciadora del ARNm y ha sido identificada en individuos con cáncer de colon hereditario no polipósico y CMMRD. No ha sido hallada en base de datos poblacionales como gnomAD o 1000G. Es por ello que, de acuerdo con los criterios de InSight, se clasifica como una variante de clase 5 o patogénica. No obstante, presenta una frecuencia alélica de un 49.6%, lo que indicaría que se encuentra en heterocigosis, por lo que explicaría un caso de síndrome de Lynch pero no de CMMRD, ya que, para ello debería encontrarse en homocigosis o bien, encontrarse otra variante patogénica que produjera la inactivación del otro alelo de *PMS2*.

Para entender la complejidad en el análisis por NGS de las variantes encontradas en *PMS2*, es importante tener en cuenta que existe un pseudogén (*PMS2CL*) que presenta una muy alta homología con el gen *PMS2*. Esto resulta fundamental desde el punto de vista del Laboratorio, puesto que encontrar una variante patogénica en el gen tiene gran relevancia para el diagnóstico del paciente, mientras que esa misma variante en el pseudogén carecería por completo de relevancia clínica.

El software utilizado para el análisis de las variantes de NGS, Sophia DDM, presenta además un “pipeline” bioinformático para el cálculo de variantes de número de copias (CNVs)

específico para el gen *PMS2*. Se basa en variantes de secuencia paralogas (PSV) correspondientes en el gen y en el pseudogén. En el caso particular de nuestro paciente, se observó que todas las PSV analizadas del exón 14 del gen *PMS2* presentaban una sola copia en el gen mientras que tenían dos copias (una por cada alelo) en el pseudogén. Este hecho se asoció a la delección completa del exón 14 del gen *PMS2*. Esta segunda variante detectada, también se clasificaría como patogénica o clase 5, pues de acuerdo con los criterios de InSight cualquier variante que resulte en un codón stop prematuro o cambio en el marco de lectura que no se encuentre en el último exón del gen se clasifica como patogénica (*PMS2* consta de un total de 15 exones). Además, los exones finales del gen conforman una zona interacción con la proteína MLH-1.

Por tanto, como resumen de los datos generados en el estudio de secuenciación masiva, se encontraron dos variantes patogénicas en heterocigosis:

- *PMS2*: c.1A<C p.(Met1?).
- Delección del exón 14 de *PMS2*.

## 6. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Al encontrarse una segunda variante patogénica en *PMS2* se enfoca el diagnóstico hacia CMMRD. No obstante, además de confirmar las variantes encontradas, es fundamental conocer si ambas variantes se encuentran en el gen y, de ser así, si se encuentran en configuración cis o trans.

### 6.1. ¿Se encuentran las variantes en el gen?:

Para confirmar si las variantes se encuentran en el gen o el pseudogén se realiza una *Long-Range PCR*; un tipo de PCR en la que el fragmento a amplificar es de gran tamaño, mayor de 5 Kb, aunque pueden llegar a amplificarse fragmentos de hasta 50 Kb. Para realizar este tipo de PCR es fundamental incluir una polimerasa de alta fidelidad que presente actividad correctora de errores, pues a mayor longitud del ADN mayor probabilidad de que la polimerasa cometa errores, por lo que se reduciría notablemente la fidelidad de la amplificación.

Por otro lado, para evitar la amplificación de secuencias inespecíficas del pseudogén, se diseñan primers complementarios a secuencias que se encuentran en el gen y no en el pseudogén, de tal manera que los primers únicamente hibriden con el gen. Como *PMS2* presenta una longitud aproximada de 35 Kb, se diseñaron tres Long-Range PCR de unas 9 Kb cada una, de manera que según el exón en el que se detecte la variante, se selecciona un amplicón u otro. Es importante que una vez realizada la amplificación se compruebe si realmente el fragmento ha amplificado correctamente. Para ello se realiza una electroforesis en gel de agarosa que, al separar por tamaño los distintos fragmentos de ADN amplificados, revele la presencia de una banda de 9 Kb que corresponda con el amplicón en cuestión.

Sobre este fragmento de ADN ya se puede realizar una PCR con primers complementarios a los extremos del exón donde hemos detectado la variante. Este procedimiento, en el que se realiza una primera PCR de mayor longitud y sobre su

producto, se realiza otra PCR con un segundo grupo de cebadores situados internamente se denomina PCR anidada o *nested-PCR*.

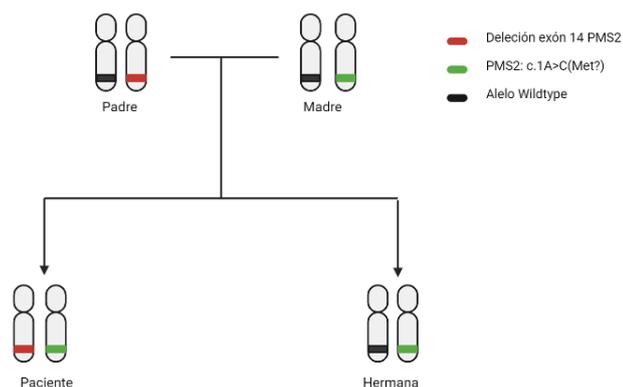
Una vez realizado este procedimiento, se realizó la secuenciación Sanger y se detectó que tanto la variante puntual como la delección se encontraban en el gen, confirmándose que ambas mutaciones se encontraban en el gen y no en el pseudogen.

## 6.2. ¿Las variantes se encuentran en configuración *cis* o *trans*?:

No obstante, para finalmente confirmar que la clínica del paciente obedece a un caso de CMMRD, hay que discernir si las variantes se encuentran en configuración *cis* o *trans*. La configuración en *cis* indica que un individuo que es heterocigoto en dos *loci* adyacentes presenta esas dos mutaciones en el mismo cromosoma, en vez de una en cada cromosoma homólogo (configuración en *trans*). Por tanto, un individuo presenta las variantes en configuración *trans* cuando ha heredado una de cada progenitor.

De manera sistemática, cuando se detecta una variante patogénica o probablemente patogénica en un gen que predispone al cáncer, se contacta con los familiares para realizar un estudio dirigido que permita conocer si presentan la variante y, de ser así, realizar las acciones preventivas pertinentes.

Al realizar el estudio dirigido a los familiares de nuestro paciente, se encontró que su padre presentaba la delección del exón 14 en heterocigosis y su madre, la variante puntual PMS2: c.1A>C(Met?) también en heterocigosis. Por tanto, ambos padres presentan síndrome de Lynch y el paciente índice síndrome de déficit de reparación constitutivo en heterocigosis compuesta con configuración en *trans*.



**Figura 3.** Árbol genealógico de la familia. Fuente: Elaboración propia.

## 7. EVOLUCIÓN

Tanto el caso índice, diagnosticado de CMMRD, como sus familiares que presentan síndrome de Lynch, deben

someterse a una colonoscopia de seguimiento cada año. Asimismo, para el cáncer de endometrio, se recomienda la aspiración endometrial o la ecografía transvaginal anual. En lo que respecta al cáncer de ovario, las opciones son la ecografía transvaginal y la evaluación de los niveles séricos de del marcador CA 125 anualmente. La histerectomía y la ooforectomía también se pueden considerar como profilaxis.

## 8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

El déficit constitucional de reparación de errores de apareamiento es un síndrome minoritario y devastador de predisposición al cáncer infantil. El hecho de que no existan unas características clínicas específicas de la enfermedad, junto con el amplio espectro de tumores asociados y fenotipos solapantes, hace difícil su diagnóstico. No obstante, se está trabajando en la optimización de estrategias de análisis de *PMS2* mediante secuenciación masiva, limitando el impacto negativo de la presencia de pseudogenes. También, en la posibilidad de realizar un cribado a nivel nacional en pacientes infantiles con neoplasias hematológicas o del sistema nerviosos central en familias altamente sugestivas de CMMRD con un panel NGS de inestabilidad de microsatélites de alta sensibilidad.

Los resultados obtenidos revelan inestabilidad de microsatélites en sangre de individuos con CMMRD, que podrían orientar al diagnóstico de esta entidad un hecho bastante relevante pues podría mejorar el pronóstico de la enfermedad, que en la actualidad se encuentra limitado por la demora en su diagnóstico. Asimismo, se ha detectado que hay patrones de inestabilidad característico de unos tumores con respecto a otros, lo cual puede hacernos anticipar recaídas del mismo tumor o la aparición de otro tumor distinto.

## BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Abedalthagafi M. Constitutional mismatch repair deficiency: current problems and emerging therapeutic strategies. *Oncotarget*. 2018;(83):35458-35469.
- Aronson M, Colas C, Shuen A, Hampel H, Foulkes WD, Baris Feldman H, Goldberg Y, Muleris M, Wolfe Schneider K, McGee RB, Jasperson K, Rangaswami A, Brugieres L, Tabori U. Diagnostic criteria for constitutional mismatch repair deficiency (CMMRD): recommendations from the international consensus working group. *J Med Genet*. 2022;(4):318-327.
- Wimmer K, Kratz CP, Vasen HF, Caron O, Colas C, Entz-Werle N, Gerdes AM, Goldberg Y, Ilencikova D, Muleris M, Duval A, Lavoine N, Ruiz-Ponte C, Slavc I, Burkhardt B, Brugieres L; EU-Consortium Care for CMMRD (C4CMMRD). Diagnostic criteria for constitutional mismatch repair deficiency syndrome: suggestions of the European consortium 'care for CMMRD' (C4CMMRD). *J Med Genet*. 2014 Jun;51(6):355-65.

# 14- SÍNDROME DE TRAF7: EXPERIENCIA DE 5 PACIENTES EN LA UNIDAD DE DISMORFOLOGÍA Y GENÉTICA

**Autor:** Emma Soengas Gonda<sup>1,4</sup>, Carmen Palma Milla<sup>2,4</sup>, Irene Lázaro Rodríguez<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigación Biomédica en Red en Enfermedades Raras (CIBERER), Madrid

<sup>2</sup> Servicio de Genética, Hospital 12 de Octubre, Madrid

<sup>3</sup> Servicio de Pediatría, Unidad de Endocrinología, Hospital 12 de Octubre, Madrid

<sup>4</sup> UDISGEN (Unidad de dismorfología y genética)

**Palabras clave:** *TRAF7*, anomalías cardíacas, dismorfias faciales

## 1. INTRODUCCIÓN

El síndrome de *TRAF7* (también conocido como CAFDADD; *Cardiac, facial, and digital anomalies with developmental delay*; MIM #618164; ORPHA: 592570) está causado por variantes patogénicas en el gen *TRAF7* que afectan a la línea germinal. Fue descrito en 2018 por Tokita et al.<sup>1</sup> y en la actualidad se han publicado alrededor de 55 casos afectos de este síndrome en todo el mundo<sup>1-5</sup>.

Aunque la presentación clínica del síndrome puede ser muy variable, se han identificado algunas características comunes. Entre ellas se incluyen anomalías neurológicas y del desarrollo, como discapacidad intelectual, retraso en el lenguaje y retraso psicomotor, así como epilepsia en algunos individuos. Con frecuencia también se observan anomalías cardiovasculares (como ductus arterioso persistente, defectos septales auriculares o ventriculares y doble salida de ventrículo derecho, entre otros), esqueléticas (como escoliosis u otras deformidades de la columna vertebral y anomalías digitales) y rasgos faciales dismórficos (como ptosis, blefarofimosis, epicanto, orejas anormalmente implantadas/ displásicas).

Además, se han descrito variantes patogénicas somáticas en el gen *TRAF7* en una amplia gama de tumores, como los meningiomas, mesoteliomas, perineuriomas intraneurales y tumores adenomatoides del tracto genital<sup>6-10</sup>.

Hasta la fecha se han descrito 23 variantes patogénicas missense diferentes asociadas al síndrome *TRAF7*, algunas de ellas recurrentes. Aquí describimos 5 pacientes con diagnóstico clínico y molecular de síndrome *TRAF7*, portadores de variantes *de novo* en el gen *TRAF7*.

## 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

Se trata de 5 pacientes no emparentados entre sí remitidos a la consulta de Genética en el período entre 2019 y 2022 desde la consulta de Sindromología para estudio y asesoramiento genético por presentar un cuadro clínico consistente en malformaciones cardíacas acompañadas de dismorfias, anomalías digitales y discapacidad intelectual en grado variable.

## 2.1 CASO 1

### 2.1.1 Antecedentes personales:

Entre los antecedentes personales, destacan:

- Prenatal: higroma quístico y arteria umbilical única.
- Período perinatal: ductus arterioso persistente y coartación de aorta intervenida.
- Desde el primer año de vida se observó retraso global del desarrollo, obteniendo los principales hitos madurativos con un ligero retraso: sonrisa social a los 2 meses, sedestación a los 11 meses y marcha a los 23 meses.
- Estenosis de la arteria pulmonar periférica y reflujo gastroesofágico.

### 2.1.2 Antecedentes familiares:

Hija de una pareja sana no consanguínea sin antecedentes familiares de interés.

### 2.1.3 Enfermedad actual:

Niña de 11 años que presenta rasgos faciales dismórficos que incluyen braquicefalia, ptosis, blefarofimosis, epicanto, hipertelorismo con estrabismo y nistagmo, orejas pequeñas de implantación baja con anomalía del pabellón auricular, micrognatia, paladar estrecho y cuello ancho. Además, presenta alteraciones esqueléticas como hábito marfanoide y pectus carinatum, contracturas articulares e hipermovilidad de las extremidades superiores, 11 pares de costillas y escoliosis.

La paciente presenta retraso en el lenguaje expresivo y receptivo, así como dificultades en la lectoescritura y la memoria. Acude a escuela de integración

La paciente a los 10 años pesaba 24,6 kg (-1.9 DE) y medía 125 cm (-3.1 DE).

La resonancia magnética cerebral y los análisis de sangre que incluían perfil de hormonas tiroideas y de crecimiento fueron normales.

Se le realizó una audiometría de potenciales evocados del tronco encefálico que reveló una hipoacusia mixta.

## 2.2 CASO 2

### 2.2.1 Antecedentes personales:

Entre los antecedentes personales, destacan:

- Prenatal: macrocefalia y arteria umbilical única.
- Exploración perinatal: cráneo asimétrico y miembro inferior derecho de mayor tamaño que el izquierdo. En los primeros días presentó desaturaciones y se objetivó ductus arterioso persistente que precisó cirugía.
- Desde el inicio se observaron problemas de succión con escasa ganancia ponderal en los primeros meses y un retraso global del desarrollo consiguiendo el sostén cefálico a los 6 meses y la deambulación a los 22 meses.
- En la infancia sufrió convulsiones clónicas e hipotonía.

### 2.2.2 Antecedentes familiares:

Hijo de pareja sana no consanguínea. Tiene 2 hermanas sanas. Primo hermano de la madre con retraso psicomotor severo de causa no aclarada.

### 2.2.3 Enfermedad actual:

Varón de 16 años que presenta rasgos faciales dismórficos que incluyen hipertelorismo, telecanto, ptosis, morfología anormal del puente nasal con punta nasal pequeña y nariz estrecha, orejas de implantación baja, anomalía del surco nasolabial, paladar alto arqueado, micrognatia y cuello corto. Además, presenta pezones muy separados e hipospadias. Entre los hallazgos esqueléticos destacan el pectus carinatum, deformidad en flexión del codo y anomalías digitales (sindactilia cutánea entre los dedos 2º-3º y 4º-5º, arnodactilia, talipes equinovarus y metatarso aducto).

También presenta retraso en el lenguaje, especialmente en el lenguaje expresivo.

El paciente a los 15 años pesaba 42 kg (-1.92 DE) y medía 142,4 cm (-4,19 DE)

Se le realizó resonancia magnética cerebral mostró hidrocefalia triventricular a expensas del III ventrículo y los ventrículos laterales con IV ventrículo normal. Además, se le realizó ecografía abdominal en la cual se observó ptosis renal izquierda.

Se le realizó audiometría de respuesta evocada del tronco encefálico que reveló hipoacusia neurosensorial.

## 2.3 CASO 3

### 2.3.1 Antecedentes personales:

Entre los antecedentes personales, destacan:

- Prenatal: embarazo sin complicaciones salvo polihidramnios.
- Período perinatal: ductus arterioso persistente y coartación de aorta de lo que fue intervenido a los 2 meses. Además, presentaba vena cava superior izquierda persistente que drenaba en el seno coronario

y válvula aórtica bicúspide con insuficiencia cardíaca leve.

- Desde el inicio se observaron problemas de succión por lo que se le realizó una gastrostomía.
- Desde el nacimiento se observó retraso global del desarrollo, obteniendo los principales hitos madurativos con un ligero retraso: sostén cefálico a los 6 meses y deambulación a los 3 años. También presentó retraso en el lenguaje, habiendo dicho sus primeras palabras a los 4 años.

### 2.3.2 Antecedentes familiares:

Hijo de pareja sana no consanguínea. Hermana mayor con parálisis facial secundaria al parto. Sin otros antecedentes familiares de interés.

### 2.3.3 Enfermedad actual:

Niño de 12 años que presenta rasgos faciales dismórficos que incluyen trigonobraquicefalia, hipertelorismo, blefarofimosis, telecanto, ptosis, morfología anormal del puente nasal, paladar hendido, dientes apiñados, micrognatia y cabello fino y quebradizo. Además, presenta los pezones muy separados e hipospadias. Presenta anomalías digitales, como sindactilia de los dedos 3º-4º, metatarso aducto y clinodactilia del 4º dedo.

Utiliza el lenguaje de signos para expresarse.

Además, presenta atrofia óptica parcial e hipoacusia neurosensorial.

### 2.3.4 Exploración física.

El paciente a los 11 años pesaba 28.7 Kg (-1.4 DE) y medía 127.6 cm (-3 DE).

## 2.4 CASO 4

### 2.4.1 Antecedentes personales:

Entre los antecedentes personales, destacan:

- Nacimiento por cesárea debido a preeclampsia materna.
- Período perinatal: coartación de aorta, válvula aórtica bicúspide funcional y comunicación interventricular perimembranosa de lo que fue intervenido a los 2 meses de edad.
- Ha tenido un desarrollo global normal obteniendo todos los principales hitos madurativos sin problema; sostén cefálico 3 meses y medio y deambulación 17 meses.

### 2.4.2 Antecedentes familiares:

Hijo de pareja no consanguínea en una gestación obtenida por ovodonación. Padre con aneurisma de aorta ascendente e hipertensión arterial. Además, dos de sus tíos paternos presentan dilatación de la raíz aórtica. Hermana gemela sana.

### 2.4.3 Enfermedad actual:

Niño de 14 años que presenta rasgos faciales dismórficos que incluyen hipertelorismo, fisuras palpebrales inclinadas

hacia arriba, morfología anormal del puente nasal y microtia. Entre los hallazgos esqueléticos más relevantes destaca el hábito marfanoide con *pectus carinatum*, hipermovilidad articular e los miembros superiores, pie plano y valgo y escoliosis.

Desde el punto de vista académico, progresa con normalidad excepto por ligeras dificultades en lectura y lenguaje con dislalia.

Además, presenta hipoacusia conductiva.

Se le realizó la RMN cerebral que mostró ventriculomegalia residual leve y adelgazamiento del cuerpo caloso.

El paciente a los 13 años pesaba 36.4 Kg (-1.6 DE) y medía 152 cm (-1.2 DE).

## 2.5 CASO 5

### 2.5.1 Antecedentes personales:

Entre los antecedentes personales, destacan:

- Período perinatal: problemas de succión que requieren ingreso en UCI. Vena cava superior izquierda drenando en el seno coronario
- Ha tenido un desarrollo motor normal hasta el momento, consiguiendo la marcha liberada a los 18 meses. Sin embargo, muestra retraso en el lenguaje expresivo.

### 2.5.2 Antecedentes familiares:

Hijo de pareja sana no consanguínea. Madre presenta miopía magna. Hermana mayor sana. Sin otros antecedentes familiares de interés.

### 2.5.3 Enfermedad actual:

Niño de 2 años que presenta rasgos faciales dismórficos que incluyen forámenes parietales, frente prominente, blefarofimosis, ptosis, hipertelorismo, fisuras palpebrales estrechas, nariz pequeña, narinas antvertidas, paladar de arco alto, hipoplasia malar, macroglosia y cuello corto. No presenta hallazgos esqueléticos de relevancia salvo el pulgar ancho, almohadillas prominentes en los dedos y cifosis.

Además, presenta hipospadias, estrabismo, miopía e hipoacusia unilateral leve.

### 2.5.4 Exploración física:

El paciente a los 2 años pesaba 12.5 Kg (-0.4 DE) y medía 90.5 cm (0.6 DE).

## 3. INFORME DEL LABORATORIO

Se realiza estudio genético mediante secuenciación masiva del exoma completo (kit xGen Exome Panel v2.0), priorizando el filtrando de las variantes por términos HPOs. En todos los casos se han identificado variantes patogénicas en heterocigosis en el gen *TRAF7* (NM\_032271.3), compatibles con el fenotipo de los pacientes.

Cuatro de las variantes aquí descritas ya habían sido publicadas anteriormente en la literatura<sup>1-3</sup>; en cambio, la variante que porta el paciente 3 [c.1958G>T; p.(Arg653Leu)] no se ha descrito anteriormente asociada al síndrome de *TRAF7*, ni se ha detectado en bases de datos poblacionales. Sin embargo, sí se ha detectado un cambio en línea somática, que afecta al mismo aminoácido p.(Arg653Gln), asociado con meningioma. Estas variantes, al igual que la mayoría las descritas en estudios anteriores, se encuentran en los dominios WD40 o en los *loops* que los interconectan con excepción de la que porta el paciente 4 que se localiza en un residuo de la alfa-hélice del dominio coiled-coil. En cuanto a las variantes previamente publicadas en relación al síndrome de *TRAF7*, ninguna de ellas está en bases de datos poblacionales (gnomAD v2.1), todas afectan a residuos altamente conservados en la evolución y son consideradas deletéreas por los algoritmos de predicción *in silico*. Por todo ello, se considera que estas 5 variantes encontradas en *TRAF7* son patogénicas.

## 4. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

Los estudios de segregación, realizados mediante secuenciación Sanger en los progenitores, demuestran que se trata de una variante *de novo* en los pacientes 1, 2, 3 y 5. El paciente 4 ha sido concebido mediante ovodonación por lo que sólo se ha podido realizar la segregación de la variante en su padre, el cual ha resultado ser no portador.

## 5. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Los resultados obtenidos mediante la secuenciación del exoma de estos pacientes y su interpretación dirigida mediante términos HPO nos permitieron identificar en estos 5 casos la presencia de variantes patogénicas en el gen *TRAF7*, compatibles con un diagnóstico de síndrome de *TRAF7*. Las principales manifestaciones clínicas asociadas a este síndrome se encuentran recogidas en la Tabla 1.

Paciente	1	2	3	4	5
Edad al diagnóstico	11 años	16 años	12 años	14 años	2 años
Sexo	Femenino	Masculino	Masculino	Masculino	Masculino
cDNA (NM_032271.3)	c.1673C>T <sup>2</sup>	c.1964G>A <sup>1</sup>	c.1958G>T	c.1036A>G <sup>1</sup>	c.1783C>G <sup>3</sup>
Proteína	p.(Ser558Phe)	p.(Arg655Gln)	p.(Arg653Leu)	p.(Lys346Glu)	p.(Leu595Val)
Cigosidad	Heterocigosis	Heterocigosis	Heterocigosis	Heterocigosis	Heterocigosis
Origen	De novo	De novo	De novo	De novo*	De novo
Dominio	WD40	WD40	WD40	Coiled-coil	WD40
Hallazgos prenatales	Higroma quístico; arteria umbilical única	Macrocefalia y arteria umbilical única	Polihidramnios	-	-
Hallazgos postnatales	Reflujo gastroesofágico	Problemas de succión	Problemas de succión	-	Problemas de succión
Anomalías del desarrollo	Retraso global del desarrollo y del lenguaje	Retraso global del desarrollo y del lenguaje	Retraso global del desarrollo y del lenguaje	Dificultades del lenguaje	Retraso global del desarrollo y del lenguaje
Alteración neurológica	-	Convulsiones clónicas	-	-	-
Dismorfias	Braquicefalia, ptosis, blefarofimosis, epicanto, hipertelorismo, orejas de implantación baja, paladar estrecho, cuello ancho	Hipertelorismo, telecanto, ptosis, orejas de implantación baja, paladar alto arqueado, micrognatia, cuello corto	Trigonobraquicefalia, hipertelorismo, blefarofimosis, telecanto, ptosis, paladar hendido, dientes apiñados, micrognatia y cabello fino y quebradizo	Hipertelorismo, fisuras palpebrales inclinadas hacia arriba, morfología anormal del puente nasal, microtia	Blefarofimosis, ptosis, hipertelorismo, fisuras palpebrales estrechas, paladar de arco alto, macroglosia y cuello corto
Anomalías cardíacas	DAP, coartación de aorta	DAP, coartación de aorta	DAP, coartación de aorta, VAB	DAP, coartación de aorta, VAB, CIV	Drenaje de vena cava superior izqda. en seno coronario
Anomalías esqueléticas	<i>Pectus carinatum</i> , hábito marfanoide	<i>Pectus carinatum</i>	-	<i>Pectus carinatum</i> , hábito marfanoide	-
Anomalías digitales	-	Sindactilia, aracnodactilia, talipes equinovarus, metatarso aducto	Sindactilia, metatarso aducto, clinodactilia	-	-
Hipoacusia	Mixta	Neurosensorial	Neurosensorial	Conductiva	Unilateral leve
Somatometría	Peso (-1.9 DE) Talla (-3.1 DE)	Peso (-1.92 DE) Talla (-4,19 DE)	Peso (-1.4 DE) Talla (-3 DE)	Peso (-1.6 DE) Talla (-1.2 DE)	Peso (-0.4 DE) Talla (0.6 DE)
Otros	-	-	Atrofia óptica, hipospadias	-	Miopía, estrabismo, hipospadias

**Tabla 1.** Variantes patogénicas presentes en los pacientes descritos en el gen TRAF7. \*Muestra materna no disponible. DAP: ductus arterioso persistente; VAB: válvula aórtica bicúspide; CIV: comunicación interventricular. Elaboración propia

## 6. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

La sintomatología principal del síndrome de TRAF7 como la talla baja, los rasgos dismórficos y las alteraciones cardíacas y esqueléticas no son únicas en él, sino que se solapan con muchas otras patologías; principalmente:

- Rasopatías (Noonan, Costello)
- Trastornos del tejido conectivo (Ehlers-Danlos o Marfan)
- Síndrome de Dubowitz
- Síndrome de Ohdo (gen KAT6B)
- Síndrome de Loey-Dietz
- Síndrome de Baraitser-Winter

## 7. EVOLUCIÓN.

Se recomienda que estos pacientes continúen con sus revisiones periódicas en los diferentes especialistas (cardiólogo, endocrinólogo, otorrinolaringólogo, oftalmólogo, etc.

Además, teniendo en cuenta la última publicación en la que se relaciona el Síndrome de TRAF7 con la aparición de tumores se recomienda seguimiento en el oncólogo desde su diagnóstico<sup>11</sup>.

## 8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

En humanos, la familia del factor asociado al receptor del factor de necrosis tumoral (TNF-R) (TRAF) consta de siete miembros, siendo TRAF7 el último en ser identificado. Todos los miembros comparten una organización de dominios que consiste en una estructura modular que les permite transmitir señales procedentes de distintos receptores, pero cada uno de ellos desempeña un papel único y bien definido en la biología celular. En concreto, TRAF7 es una proteína intracelular multifuncional que actúa como mediador clave de las vías de señalización del factor nuclear- $\kappa\beta$  (NF- $\kappa\beta$ ) y de las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPKs), desempeñando un papel crucial en el control de la supervivencia, proliferación y diferenciación celular<sup>12-14</sup>.

El gen TRAF7 (ENST00000326181.11; NM\_032271.3) se localiza en el cromosoma 16, tiene 21 exones y codifica una proteína de 670 aminoácidos (E3 ubiquitina proteín-ligasa TRAF7). Esta proteína contiene un dominio N-terminal *RING finger*, un dominio de dedos de zinc adyacente tipo TRAF, un motivo *coiled-coil* situado en el centro y siete repeticiones WD40 en el dominio C-terminal<sup>12</sup>. Las repeticiones WD40 son exclusivas de TRAF7 dentro de la familia TRAF; los otros 6 miembros restantes presentan en su lugar un dominio TRAF C-terminal.

En general, tanto las variantes patogénicas de la línea germinal como de la línea somática son cambios *missense* que se agrupan en las repeticiones WD40 de la proteína TRAF7, y aproximadamente la mitad de ellas son recurrentes. Curiosamente, la gran mayoría de las variantes somáticas y germinales no se solapan, con la excepción de

un caso notificado recientemente de un paciente que presenta síndrome de TRAF7 en mosaico con meningioma<sup>2,11</sup>.

## BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. Tokita MJ, Chen CA, Chitayat D, Macnamara E, Rosenfeld JA, Hanchard N, et al. De Novo Missense Variants in TRAF7 Cause Developmental Delay, Congenital Anomalies, and Dysmorphic Features. *Am J Hum Genet* [Internet]. 2018;103(1):154–62. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2018.06.005>
2. Castilla-Vallmanya L, Selmer KK, Dimartino C, Rabionet R, Blanco-Sánchez B, Yang S, et al. Phenotypic spectrum and transcriptomic profile associated with germline variants in TRAF7. *Genet Med* [Internet]. 2020 Jul 1 [cited 2022 May 9];22(7):1215–26. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41436->
3. Paprocka J, Nowak M, Nieć M, Janik I, Rydzanicz M, Robert Ś, et al. Case Report: Blepharophimosis and Ptosis as Leading Dysmorphic Features of Rare Congenital Malformation Syndrome With Developmental Delay – New Cases With TRAF7 Variants. *Front Med* [Internet]. 2021 Aug 26 [cited 2022 Jan 28];8:708717. Available from: </pmc/articles/PMC8428514/>
4. Accogli A, Scala M, Pavanello M, Severino M, Gandolfo C, De Marco P, et al. Sinus pericranii, skull defects, and structural brain anomalies in TRAF7-related disorder. *Birth defects Res* [Internet]. 2020 Aug 1 [cited 2022 Jan 28];112(14):1085–92. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32459067/>
5. Chaisrisawadisuk S, Taranath A, Azzopardi J, Moore MH. Multi-suture craniosynostosis in c.1570C>T (p.Arg524Trp) mutated TRAF7: a case report. *Child's Nerv Syst* [Internet]. 2021 Jul 10 [cited 2022 Jan 28];1:1–4. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00381-021-05285-7>
6. Watts TH, Zapata JM, Xie P, Zhu S, Jin J, Gokhale S, et al. Genetic Alterations of TRAF Proteins in Human Cancers. *Front Immunol* | [www.frontiersin.org](http://www.frontiersin.org) [Internet]. 2018;9:2111. Available from: [www.frontiersin.org](http://www.frontiersin.org)
7. Stevers M, Rabban JT, Garg K, Van Ziffle J, Onodera • Courtney, Grenert JP, et al. Well-differentiated papillary mesothelioma of the peritoneum is genetically defined by mutually exclusive mutations in TRAF7 and CDC42. *Mod Pathol* [Internet]. 2019 [cited 2022 Aug 22];32:88–99. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41379-018-0127-2>
8. Goode B, Joseph NM, Stevers M, Van Ziffle J, Onodera C, Talevich E, et al. Adenomatoid tumors of the male and female genital tract are defined by TRAF7 mutations that drive aberrant NF- $\kappa\beta$  pathway activation. *Mod Pathol* [Internet]. 2018 [cited 2022 Aug

- 22];31(4):660–73. Available from: [http://www.nature.com/authors/editorial\\_policies/permissions.html#terms](http://www.nature.com/authors/editorial_policies/permissions.html#terms)
9. Klein CJ, Wu Y, Jentoft ME, Mer G, Spinner RJ, James P, et al. Genomic Analysis Reveals Frequent TRAF7 Mutations in Intraneural Perineuriomas.
  10. Clark VE, Zeynep Erson-Omay E, Serin A, Yin J, Cotney J, Özduman K, et al. Genomic analysis of non-NF2 meningiomas reveals mutations in TRAF7, KLF4, AKT1, and SMO HHS Public Access. *Science* (80- ). 2013;339(6123):1077–80.
  11. Kaidonis G, Pekmezci M, Ziffle J Van, Auguste KI, Horton JC. TRAF7 somatic mosaicism in a patient with bilateral optic nerve sheath meningiomas: illustrative case. *J Neurosurg Case Lessons* [Internet]. 2022 Jun 6 [cited 2023 Mar 22];3(23). Available from: [/pmc/articles/PMC9204931/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/39204931/)
  12. Zotti T, Vito P, Stilo R. The seventh ring: Exploring TRAF7 functions. *J Cell Physiol* [Internet]. 2012 Mar 1 [cited 2022 Aug 22];227(3):1280–4. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jcp.24011>
  13. Xu LG, Li LY, Shu HB. TRAF7 Potentiates MEKK3-induced AP1 and CHOP Activation and Induces Apoptosis. *J Biol Chem*. 2004 Apr 23;279(17):17278–82.
  14. Bouwmeester T, Bauch A, Ruffner H, Angrand PO, Bergamini G, Croughton K, et al. A physical and functional map of the human TNF- $\alpha$ /NF- $\kappa$ B signal transduction pathway. *Nat Cell Biol* 2004 62 [Internet]. 2004 Jan 25 [cited 2022 Aug 22];6(2):97–105. Available from: <https://www.nature.com/articles/ncb1086>

## **BLOQUE IV**

---

# **FARMACOLOGÍA Y TOXICOLOGÍA**

# 15- FALLO HEPÁTICO FULMINANTE POR CONSUMO DE SETAS

**Autores:** Ylenia Pérez Arnaiz\*, Mercedes Blanco Colomo\*, Alba María Fernández Del Pozo.

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

\*Ambos autores han colaborado de forma equitativa en la redacción del texto.

**Palabras clave:** Intoxicación, Hepatitis, Setas.

## 1. INTRODUCCIÓN

El fallo hepático fulminante es un síndrome clínico que hace referencia a un deterioro de la función hepática de forma severa y aguda. Es una enfermedad multisistémica originada por daño hepático que evoluciona rápidamente y se manifiesta por el desarrollo de encefalopatía y alteración de la coagulación en un paciente sin enfermedad hepática previa. Sin tratamiento adecuado el pronóstico es desfavorable.

En cuanto a la etiología, un fallo hepático fulminante puede deberse a múltiples causas como intoxicación por fármacos como el acetaminofeno o por otras toxinas, hepatitis vírica o autoinmune, HELLP, septicemia, golpe de calor, entre otras; siendo las más comunes en adultos la hepatitis vírica y la inducida por fármacos.

El fallo hepático fulminante (FHF) se produce por una necrosis de los hepatocitos, secundaria a diferentes procesos lesivos, tanto inmunológicos como por daño directo. Las causas de estos procesos son diversas y complejas. Aunque tras el daño de los hepatocitos existen mecanismos reparadores, éstos no son capaces de compensar la pérdida de función hepática, apareciendo consecuentemente signos de insuficiencia hepatocelular.

Muchos de los síntomas iniciales en pacientes con insuficiencia hepática aguda son inespecíficos incluyendo malestar general, letargo, anorexia, náuseas y vómitos, dolor en el cuadrante superior derecho del abdomen, ictericia o distensión abdominal. A medida que avanza la enfermedad, los pacientes pueden presentar alteraciones en el estado mental como confusión e incluso coma.

## 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

### 2.1 Motivo de consulta:

Mujer de 74 años acude al Servicio de Urgencias por cuadro de dolor abdominal de 12 horas de evolución, asociado a náuseas y vómitos y aumento del ritmo deposicional.

### 2.2 Antecedentes personales:

Entre los antecedentes personales, destacan:

- Hipertensión arterial en tratamiento con enalapril.
- Bocio coloide en seguimiento por el Servicio de Endocrinología.

### 2.3 Antecedentes familiares:

La paciente no presenta antecedentes familiares de interés.

### 2.4 Enfermedad actual:

La paciente presenta dolor abdominal de doce horas de evolución de predominio en hipocondrio derecho, asociado a náuseas y vómitos de contenido alimentario y aumento del ritmo deposicional (cinco o seis deposiciones), con heces de consistencia blanda sin productos patológicos. Refiere ingesta de setas silvestres la noche anterior. No ha presentado fiebre ni sensación distérmica.

### 2.5 Exploración física:

A su llegada a urgencias la paciente impresiona de buen estado general, normocoloreada, normoperfundida, consciente, orientada, colaboradora. Eupneica en reposo sin trabajo respiratorio. En la palpación del abdomen se observan ruidos hidroaéreos. El abdomen es blando, depresible, levemente doloroso a la palpación profunda, sin masas ni megalias ni datos de peritonismo. Signos de Murphy y de Blumberg negativos.

La medición de las constantes arrojó los siguientes resultados:

- Temperatura de 36°C.
- Tensión sistólica 207 mmHg.
- Tensión diastólica 100 mmHg.
- Frecuencia cardíaca 87 latidos/min.

## 3. INFORME DEL LABORATORIO

Se realiza una analítica sanguínea en el Servicio de Urgencias con escasas alteraciones presentando en controles posteriores citólisis hepática con datos de disfunción hepatocelular (GPT 1471 U/L, GOT 1503 U/L, LDH 1455 U/L, bilirrubina 1,5 mg/dL, actividad de protrombina 32%).

## 4. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Fallo hepático fulminante tras ingesta de *Lepiota brunneoincarnata*.

## 5. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

El diagnóstico diferencial de una intoxicación por hongos que contienen amatoxina incluye la toxicidad por la ingestión de otros hongos y otras causas de gastroenteritis aguda o insuficiencia hepática aguda. La etiología ante un cuadro de fallo hepático agudo es amplia y se especifica en la tabla 1.

<b>Víricas</b>	Hepatotropos	VHA, VHB, VHC, VHD, VHE
	No hepatotropos	Herpes simple 1 y 2, Varicela Zoster, Epstein Barr, Citomegalovirus, Parvovirus, Coxsackie...
	No identificados	
<b>Fármacos</b>	Paracetamol	
	Otros	Antidepresivos, tuberculostáticos, AINEs
<b>Tóxicas</b>	Setas	
	Disolventes industriales	
	Aflatoxina, fósforo amarillo	
<b>Otras</b>	Necrosis isquémica hepática, Sd. Budd Chiari, esteatosis microvascular	

**Tabla 1.** Etiología del fallo hepático fulminante. Elaboración propia.

## 1. EVOLUCIÓN

La paciente ingresa en la Unidad de Cuidados Intensivos por fracaso hepático fulminante. Se inicia fluidoterapia, gastroprofilaxis y administración de silibinina intravenosa. La evolución en las próximas horas de ingreso es desfavorable presentando deterioro analítico progresivo con acidosis metabólica hiperlactacidémica (lactato > 17 mmol/L, pH de 7.14 y EB de -22) que no mejora tras intensificación de fluidoterapia y reposición de bicarbonato. Asocia fracaso renal agudo oligoanúrico con un pico de creatinina de 1.6 mg/dL por lo que se decide inicio de terapia de depuración extrarrenal. Respecto al fallo hepático agudo, mantiene citolisis en ascenso y datos de disfunción hepatocelular grave con hipoglucemia, coagulopatía y bilirrubinemia manteniendo amonemia de 64 y ausencia de encefalopatía hasta el momento. De acuerdo al rápido deterioro de función hepatocelular, se decide asociación de terapia de hemoperfusión. En las figuras 1, 2 y 3 se muestra la evolución del perfil de hemostasia, ALT, AST, LDH y amonio.

De forma paralela, debido a la situación clínica, se solicita la inclusión de la paciente en Urgencia Cero para trasplante hepático urgente, realizándose 24 horas después. Existe una mejoría significativa tras la intervención presentando gasometría sin acidosis. Sin embargo, en las primeras horas postoperatorias, destaca empeoramiento progresivo marcado por inicio de shock cardiogénico y fracaso respiratorio que la paciente no había presentado anteriormente. Finalmente, la paciente sufre parada cardiorrespiratoria en asistolia recuperada. Tras sufrir una segunda parada cardiorrespiratoria, se decide el cese de las

maniobras de RCP, causando el fallecimiento de la paciente.

## 2. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

La intoxicación por setas, también llamado micetismo, presenta una incidencia en España de entre 5 y 10 casos por millón de habitantes/año. El 80% de estas intoxicaciones son colectivas y siguen un periodo estacional viéndose incrementadas en el periodo que abarca desde finales del mes de agosto hasta comienzos del mes de diciembre.

En torno al 50% de los pacientes afectados no acuden al médico. Del 50% restante que sí lo hacen, generalmente la mitad de ellos presentan un cuadro de gastroenteritis, un 40% presenta afectaciones graves por ingestión del hongo *Amanita phalloides* y el 10% presenta procesos sin gravedad.

Se conocen más de 5000 especies de hongos y solo 50 son tóxicas estando entre los responsables de la mayoría de muertes los géneros *Amanita*, *Galerina* y *Lepiota*; responsables del síndrome ciclopeptídico, también conocido como faloidiano o amanítico.

Las sustancias activas responsables de esta toxicidad se denominan amatoxinas y son resistentes a la cocción y a la desecación. Estructuralmente son octopéptidos bicíclicos con fácil absorción por las células intestinales. A través de la circulación portal llegan al hígado donde inhiben la ARN polimerasa II, inhibiendo por tanto la traducción del ADN y provocando la muerte celular. Además, las amatoxinas favorecen la oxidación celular y actúan sinérgicamente con

mediadores de la apoptosis como el factor de necrosis tumoral.

Como se ha mencionado anteriormente, estas toxinas actúan inhibiendo la traducción del ADN siendo todas las células nucleadas del organismo sensibles a ellas. Sin embargo, las más susceptibles son los hepatocitos y los enterocitos.

La eliminación de las amatoxinas se produce en su mayoría, un 80% aproximadamente, por vía renal. Entre un

7 y 10% de la toxina se elimina por vía biliar y esta circulación enterohepática va a mantener los niveles de toxina circulante más tiempo en el organismo.

Debido a la rapidez de afectación hepática, es necesario realizar un diagnóstico precoz para iniciar el tratamiento adecuado a la mayor brevedad posible. El diagnóstico de la intoxicación por amatoxinas se realiza complementando una buena anamnesis con una correcta valoración de las manifestaciones clínicas y las pruebas de laboratorio.

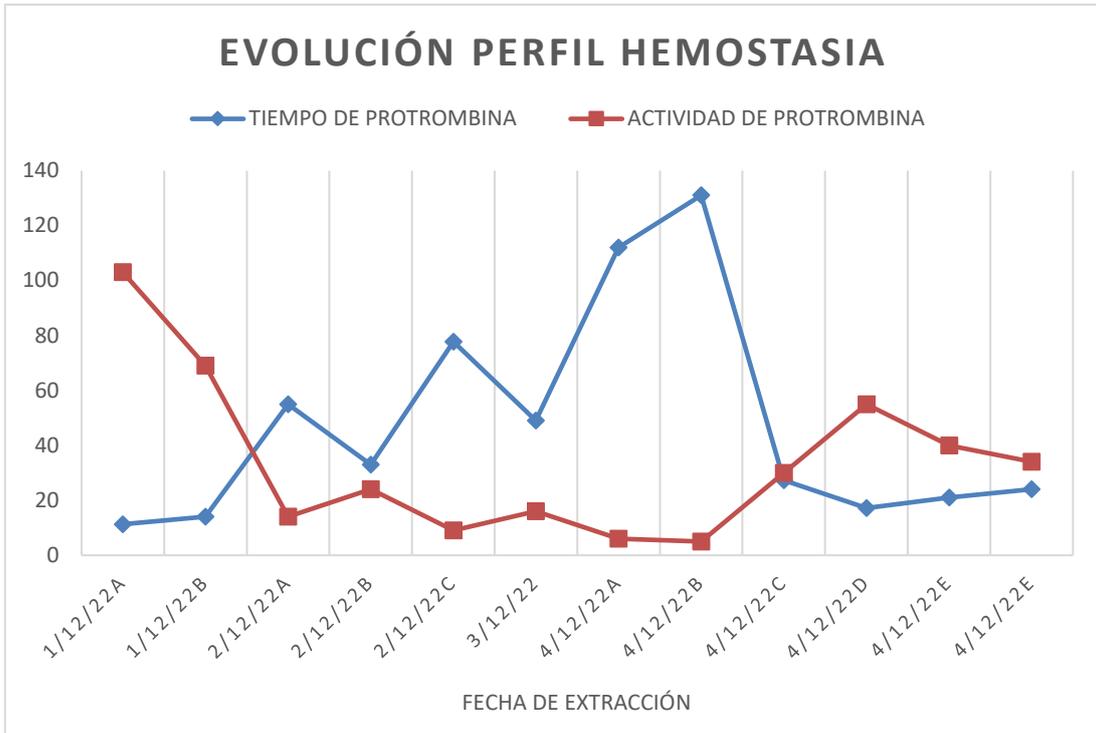


Figura 1. Evolución de los valores analíticos de hemostasia. Elaboración propia

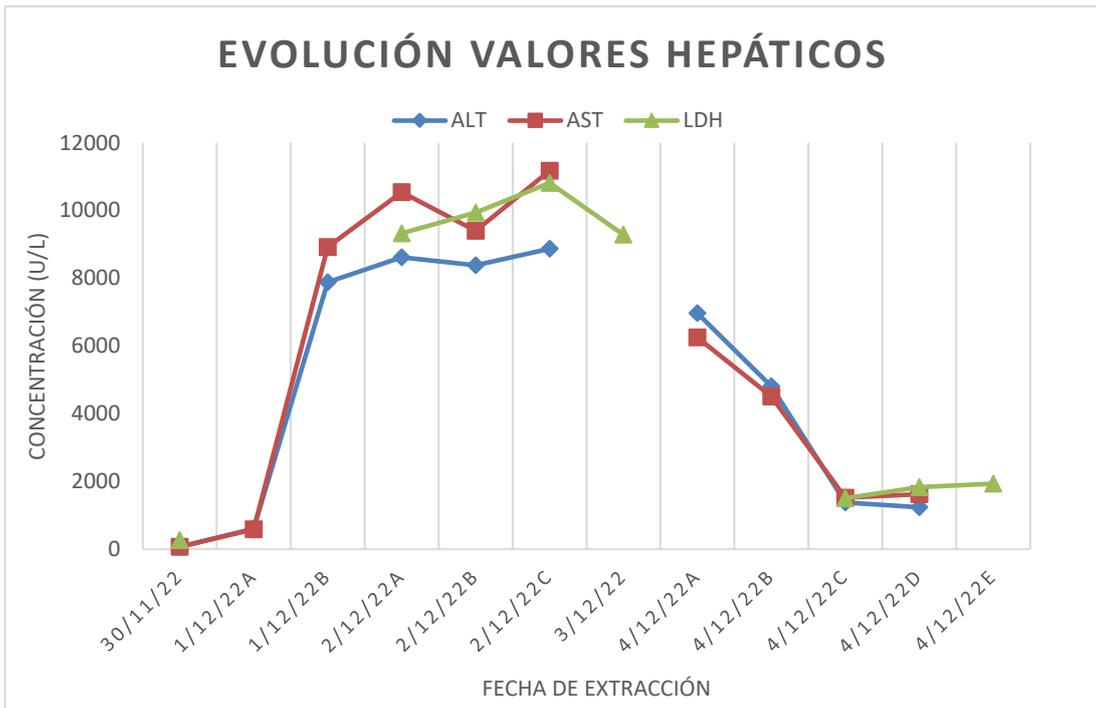
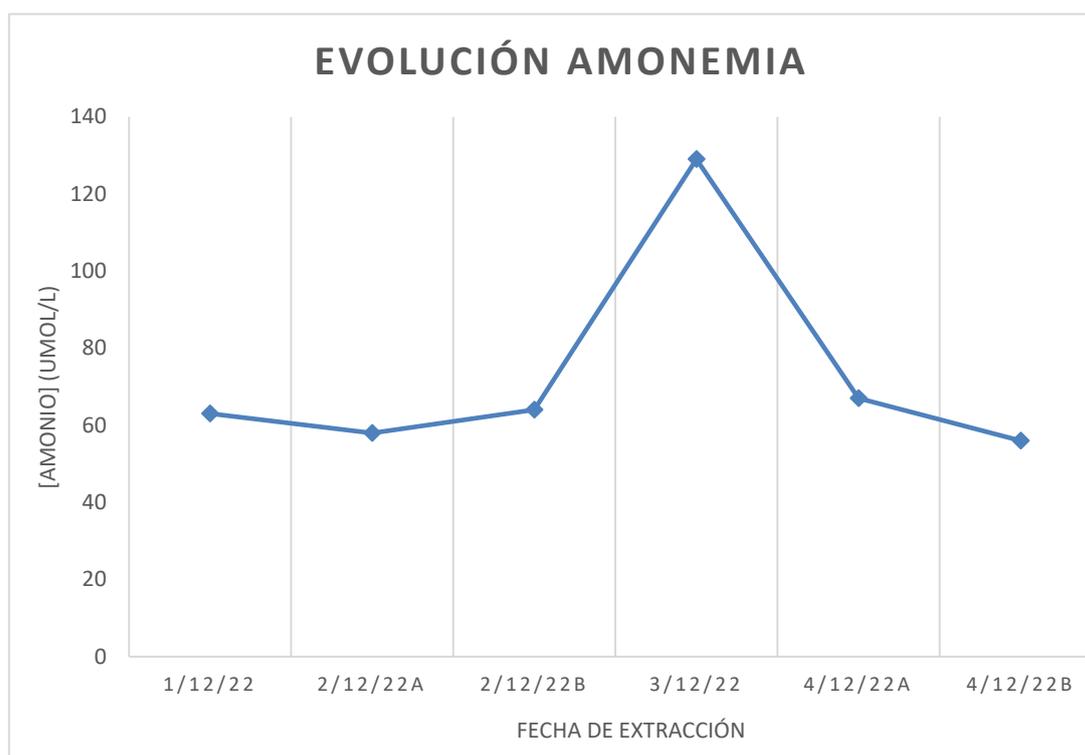


Figura 2. Evolución de los valores analíticos del perfil hepático. Elaboración propia.



**Figura 3.** Evolución de la amonemia. Elaboración propia

Además, si se aportan las setas sospechosas, el examen macroscópico de las características estructurales puede resultar de utilidad, aunque a veces es difícil diferenciar la especie puesto que el proceso de manipulación y cocción del producto puede modificar su estructura. En caso de aportar setas sospechosas, existe una prueba macroquímica rápida, aunque poco específica, basada en una reacción producida entre las amatoxinas y la lignina del papel de periódico en presencia de ácido clorhídrico produciendo una intensa coloración azul.

Es posible determinar la presencia de amatoxina en líquidos biológicos, sin embargo, la confirmación del laboratorio de la presencia de amatoxina no está disponible en muchos laboratorios hospitalarios y no es recomendable esperar a la obtención de resultados para comenzar el tratamiento. El espécimen de elección es la orina debido a la aparición de la toxina desde los 90 minutos tras la ingesta hasta cuatro días después. También se puede detectar la toxina en otras muestras como sangre o aspirados gástricos. Entre los métodos de detección encontramos técnicas moleculares como PCR, HPLC-MS, ELISA o radioinmunoensayo. Generalmente, el método más adoptado es el ELISA debido a la rapidez de obtención de resultados, a la facilidad de la técnica y a su alta sensibilidad y especificidad, del 100% para alfa amanitina y del 90% delta amanitina.

No existe un antídoto específico que antagonice el mecanismo de acción de la toxina por lo que el tratamiento está basado en dos pilares fundamentales: el mantenimiento del balance hidroelectrolítico y la desintoxicación del organismo, evitando la absorción y promoviendo la eliminación de la toxina.

Para el mantenimiento del balance hidroelectrolítico se recomienda un buen aporte de fluidoterapia y no se recomienda el uso de antidiarreicos ya que la diarrea

favorece la eliminación de la toxina del tubo digestivo.

En cuanto a la desintoxicación del organismo se recomienda la colocación de una sonda nasogástrica, preferiblemente nasoduodenal acompañada de carbón activado, forzar la diuresis con fluidoterapia y el uso de métodos de depuración renal (hemoperfusión, hemodiálisis y plasmaféresis).

Actualmente existen varias opciones de tratamiento con mayor o menor respuesta entre las que se encuentran el ácido tióctico, la dexametasona, la cimetidina, la penicilina, la sibilina, la N-acetilcisteína y amifostina entre otros. En la actualidad son muchos los hospitales que toman como referencia el tratamiento con penicilina y sibilina, pero los estudios con el uso de sibilina y NAC, solos o asociados, muestran un descenso de la mortalidad llamativo.

Como última opción terapéutica se encuentra el trasplante hepático. Es una opción que hay que sopesar debido a que en un tiempo temprano abocamos al paciente al riesgo quirúrgico y en un tiempo tardío a la muerte. Hay que decidir su realización entre las 36 y 48 horas postingesta ayudándose de diferentes criterios clínicos y analíticos para tomar la decisión. Este trasplante puede ocurrir sin peligro de toxicidad para el hígado trasplantado cuando se realiza una vez pasados como mínimo cuatro días después de la ingestión.

#### BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Ventura S, Ruiz C, Durán E, Mosquera M, Bandrés F, Campos F, et al. Amanitinas. Rev Lab Clin. 2015;8(3):109-126.
- Moreno G, Galan R, Pérez B, Sanz Anquela JM. Caracterización de Amanita Phalloides y Lepiota

- Brunneoincarnata mediante MALDI-TOF en la intoxicación ciclopetídica. Bol.Soc. Micol. Madrid 43: 191–201.
- Gavilán Carrasco JC, Bermúdez Recio FJ. Manejo de fallo hepático fulminante. Unidad de hepatología, Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario “Virgen de la Victoria” Málaga.
  - Fernández Barbero G, Ferreiro González M. Toxicidad de las setas, aspectos químicos. Aula Universitaria del Estrecho. Universidad de Cádiz.

# 16- INTERACCIÓN FARMACOCINÉTICA GRAVE POR NIRMATRELVIR/RITONAVIR EN PACIENTE TRASPLANTADO

**Autores:** Jesús Cabanes Madrid, Sara Peral García, Jon Sánchez Munárriz

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

**Palabras clave:** Nirmatrelvir/Ritonavir, tacrólimus, interacción farmacológica.

## 1. INTRODUCCIÓN

Entre los tratamientos para la enfermedad de leve a moderada de la COVID-19 destaca el Paxlovid®, un nuevo medicamento oral sólido empleado tanto en adultos como en niños de a partir de 12 años que hayan dado positivo en un test de detección del virus y que presenten un alto riesgo de progresión a enfermedad severa.

El tratamiento del Paxlovid® se basa en 300 mg de nirmatrelvir (2 pastillas de 150 mg, de color rosa) con 100 mg de ritonavir (1 pastilla de 100 mg, de color blanco), debiendo ingerir estas 3 pastillas a la vez por vía oral, 2 veces al día, durante 5 días. Al estar el riñón implicado en su eliminación, hay que tener en cuenta que para pacientes con deterioro de la función renal la posología del Paxlovid® debe modificarse, disminuyendo la dosis de nirmatrelvir a la mitad; y, en aquellos pacientes con deterioro severo, ya sea renal y/o hepático, el uso de estos fármacos no está recomendado.

De estos dos fármacos, el que actúa realmente contra el virus es el nirmatrelvir. Su mecanismo de acción se basa en la inhibición de la proteasa principal del virus, lo que le impide procesar sus precursores polipeptídicos, y como consecuencia, llevar a cabo la replicación viral.

En cuanto a la farmacocinética, una vez ingerida una dosis (300mg/100mg de nirmatrelvir/ritonavir), el tiempo medio para alcanzar la mayor concentración del nirmatrelvir es de 3 horas, lo que refleja una rápida absorción. Por otro lado, diversos estudios han demostrado que el citocromo CYP3A4, expresado principalmente en hígado y en la mucosa del intestino delgado (metabolismo de primer paso), es el principal implicado en el metabolismo oxidativo del nirmatrelvir. Sin embargo, con la fórmula del Paxlovid®, el nirmatrelvir es sometido a un metabolismo mínimo al ser administrado junto al ritonavir, porque este es un fuerte inhibidor del CYP3A4 (efecto “booster”). Como consecuencia, se produce una mayor biodisponibilidad y una mayor semivida plasmática del fármaco (7-10 horas), lo que justifica su dosificación en 2 tomas al día.

Como consecuencia de esta estrategia terapéutica aparece una importante desventaja, más allá de las complicaciones intrínsecas asociadas al fármaco nirmatrelvir, como diarrea, mialgia, hipertensión, etc. Y es que, debido principalmente al ritonavir y a la inhibición del CYP3A4, el fármaco Paxlovid® presenta importantes interacciones medicamentosas. Por tanto, es importante evaluar el resto de la medicación actual y habitual del paciente antes de prescribir este fármaco.

Por un lado, el Paxlovid® está contraindicado con otros fármacos que sean activadores de la enzima CYP3A, ya que llevaría a una reducción más rápida de los niveles plasmáticos de nirmatrelvir por aumento de su metabolismo y, por tanto, una menor respuesta contra el virus. Pero, del mismo modo, como el ritonavir inhibe al citocromo CYP3A4, el Paxlovid® está contraindicado con otros fármacos que dependan principalmente de CYP3A para su metabolismo, pues llevaría a un aumento de las concentraciones de estos otros, lo que puede causar severas reacciones adversas.

Entre los medicamentos que presentan interacciones que pueden llegar a ser mortales para el paciente se encuentra el grupo de los fármacos inmunosupresores, puesto que estos son principalmente metabolizados también por el citocromo CYP3A4. Es por ello por lo que la terapia simultánea de nirmatrelvir/ritonavir y de inmunosupresores requiere de especial estudio y seguimiento, pues debe de evitarse la elevación de los niveles de los últimos a concentraciones tóxicas.

## 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

### 2.1 Motivo de consulta:

Mujer de 74 años, diagnosticada de infección activa por coronavirus, acude a Urgencias por presentar malestar general acompañado de mareo, náuseas y boca seca, con tendencia a la hipotensión arterial. Este hecho coincide con que el día anterior comenzó el tratamiento con Paxlovid® por indicación de su médico, llegando a tomar dos dosis de este fármaco. Si bien en el momento que acude a Urgencias no presenta fiebre ni sensación disneica, la paciente refiere principalmente temblor y malestar digestivo.

### 2.2 Antecedentes personales:

Entre los antecedentes personales, destacan:

- Factores de riesgo cardiovascular: hipertensión arterial, dislipidemia e hiperuricemia.
- Cáncer de cérvix intervenido mediante conización.
- Insuficiencia renal crónica secundaria a poliquistosis renal que la llevó a iniciar programa de diálisis.
- Hiperparatiroidismo y anemia, ambas secundarias a la insuficiencia renal.
- Trasplante renal de donante fallecida, con buena evolución y recuperación inmediata de la función renal. Inmunosupresión al momento del ingreso con corticoesteroides, Advagraf® (tacrólimus) y Myfortic® (ácido micofenólico).

**2.3 Antecedentes familiares:**

La paciente no presenta antecedentes familiares de interés.

**2.4 Enfermedad actual:**

En la última revisión de la paciente en la consulta de Nefrología debido a su trasplante renal, se objetivó carga viral de CMV positiva, por lo que se le aumentó la dosis de Advagraf® y se inició Valcyte® (valganciclovir).

Una semana más tarde, la paciente fue diagnosticada de infección por coronavirus tras haberle solicitado la prueba por clínica de fiebre, debilidad generalizada, rinorrea y dolor de garganta, junto con pico febril de hasta 38°C. Por indicación de su médico se inició el tratamiento con Paxlovid®.

Tras haber tomado 2 dosis de nirmatrelvir/ritonavir, la paciente refiere empeoramiento generalizado: comenzó a manifestar náuseas, boca seca e hipotensión, con una tensión arterial 110/60 sintomática refiriendo mareo y temblor distal. Sin embargo, no refiere empeoramiento de síntomas respiratorios en relación con la infección por COVID. Además, refiere haber tomado el resto de su medicación habitual.

**2.5 Exploración física:**

A su llegada a Urgencias la paciente estaba consciente y orientada. Se le tomaron sus constantes vitales entre las que destaca:

- Temperatura: 35.9°C.
- Tensión sistólica: 100 mm Hg.
- Tensión diastólica: 58 mm Hg.
- Frecuencia cardíaca: 117 latidos/min.

**3. INFORME DEL LABORATORIO**

Se enviaron muestras al laboratorio para la medición de parámetros de bioquímica, coagulación y hemograma. Entre los resultados obtenidos, los de mayor relevancia fueron:

- Creatinina: 1.68 mg/dL (la creatinina basal de la paciente es de 1.2 mg/dL)
- Niveles de tacrólimus: 65 ng/mL (se consideran valores críticos niveles superiores a 25 ng/mL).

Como se puede observar, en su control analítico en Urgencias destacan niveles supratrapéuticos de tacrólimus, junto con un ligero deterioro de la función renal.

**4. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS**

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

**5. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO**

La detección en la analítica de Urgencias de niveles tóxicos del inmunosupresor anticalcineurínico permitió el diagnóstico de neurotoxicidad por intoxicación por FK 506 o tacrólimus, a causa de la posible interacción con el fármaco ritonavir, incluido en el tratamiento para la infección por COVID-19.

Como consecuencia, también se produjo un fracaso renal agudo. Como se puede apreciar en la Tabla 1, el aumento de la urea, así como la disminución del filtrado glomerular, acompañan al aumento de la creatinina como consecuencia del fracaso renal. Por otro lado, la Proteína C Reactiva se encuentra elevada principalmente por el contexto de la infección.

Parámetro	Resultado	Intervalo de referencia
<b>Creatinina (mg/dL)</b>	1,68	0,70-1,20 (La creatinina basal de la paciente es de 1,2)
<b>Filtrado Glomerular (CKD-EPI)</b>	30 mL/min/1,73m <sup>2</sup>	>90 mL/min/1,73m <sup>2</sup>
<b>Urea (mg/dL)</b>	93	15-71
<b>Proteína C Reactiva (mg/dL)</b>	3,61	<0,05
<b>Tacrólimus (ng/mL)</b>	65	Pacientes con bajo riesgo inmunológico, en combinación con glucocorticoides y ácido micofenólico, C <sub>0</sub> : 4-12
<b>Troponina T hs (ng/L)</b>	27,7	<14
<b>CK (U/L)</b>	97	34-145
<b>Proteínas totales (g/dL)</b>	7,2	6,4-8,3
<b>Albúmina (g/dL)</b>	4,1	3,5-5,0
<b>ALT (U/L)</b>	24	5-34
<b>Gamma-GT (U/L)</b>	19	5-36

**Tabla 1.** Resultados de las pruebas de laboratorio solicitadas para el estudio de la paciente. Elaboración propia.

## 6. EVOLUCIÓN

La paciente estuvo 3 días en observación, con sueroterapia y suspensión de la administración de tacrólimus durante el tiempo de tratamiento con nirmatrelvir/ritonavir. Se llevó a cabo una monitorización diaria de los niveles de inmunosupresor en sangre, a la vez que se realizó un seguimiento de la recuperación de la función renal, reflejado con los niveles de creatinina, ambos mostrados en la Tabla 2. La clínica neurológica fue mejorando progresivamente y se redujo significativamente el temblor y el mareo.

Una vez resuelto el cuadro de intoxicación grave, y ya finalizada la terapia con nirmatrelvir/ritonavir, se decidió dar de alta a la paciente y se reintrodujo el tacrólimus a su dosis habitual debido a que ésta presentaba concentraciones en rango terapéutico.

## 7. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

Existen estudios que han demostrado que el ritonavir actúa como un ligando que encaja a la perfección en el sitio activo de CYP3A4, uniéndose a él de forma irreversible, lo que lleva a una disminución de la actividad de este citocromo. Así, esta actividad enzimática ya solo puede restaurarse mediante síntesis de más proteína. Es por esta razón por la que el medicamento Paxlovid® interacciona con fármacos inmunosupresores como el tacrólimus o la ciclosporina, puesto que todos ellos son metabolizados por CYP3A. Como consecuencia, tanto los niveles en sangre como su tiempo de vida media se pueden llegar a ver muy incrementados.

En pacientes que han sido trasplantados, las concentraciones de los fármacos inmunosupresores deben intentar mantenerse siempre en un rango de concentraciones determinado, el cual dependerá de distintos factores como el riesgo inmunológico, el tiempo transcurrido desde el trasplante, el tratamiento concomitante con otros inmunosupresores.

La introducción de los inmunosupresores ha supuesto una revolución en el manejo del paciente trasplantado, considerándose piedra angular en la disminución de los rechazos agudos en las últimas décadas. Ahora bien, la administración de estos fármacos constituye un arma de

doble filo y lleva consigo un riesgo permanente. Por un lado, la infradosificación aumenta la probabilidad de rechazo del trasplante. Por el otro lado, la sobredosificación lleva a una inmunosupresión excesiva, con las infecciones oportunistas, enfermedades malignas u otros efectos adversos que eso conlleva.

Por todo ello, la monitorización de los niveles de fármacos es imprescindible para poder ajustar de forma correcta su dosis y evitar la toxicidad farmacológica, sobre todo cuando el paciente está en tratamiento con otros fármacos con los que puede interaccionar y ver alterado su metabolismo.

Se han realizado estudios para analizar cuál sería la mejor opción a la hora de dosificar el tacrólimus durante el transcurso del tratamiento del Paxlovid® en una infección por SARS-CoV-2. Para la mayoría de los pacientes, la mejor opción sería dejar de tomar tacrólimus 12 horas antes de comenzar el tratamiento del Paxlovid®. Hay que tener en cuenta que, durante la infección, una ligera reducción en la toma de inmunosupresores puede favorecer la eliminación del virus.

Sin embargo, esto es una opción algo arriesgada para pacientes que son de alto riesgo inmunológico, es decir, que han sido trasplantados recientemente o que presentan un mayor riesgo de rechazo. En estos casos, se debe administrar una pequeña dosis de tacrólimus en el día 1 de tratamiento con nirmatrelvir/ritonavir. Esta estrategia terapéutica consigue mantener una considerable concentración del inmunosupresor durante los siguientes 5 días. Además, es importante considerar que la dosis de ritonavir aumentará su concentración y su vida media.

Respecto al propio CYP3A, existen estudios que indican que tarda aproximadamente 3 días en volver a sus niveles iniciales (síntesis *de novo*). Por tanto, pasados unos 7 u 8 días de la infección, el fármaco tacrólimus puede ser reintroducido con la misma dosis que se administraba al paciente antes de la terapia antiviral.

El caso aquí presentado pone de manifiesto la importancia de la monitorización de fármacos en la nueva era de la medicina personalizada, como herramienta útil y necesaria para realizar el seguimiento a los pacientes trasplantados y que permite ajustar la dosis de forma individualizada atendiendo a diversos factores, entre los que se encuentra

Fecha	Tacrólimus (ng/mL)	Creatinina (mg/dL)
Anterior consulta	4,6	1,21
Al ingreso	65,2	1,68
Día +1	33,2	1,34
Día +2	19,3	1,03
Día +3	10,5	1,17
Consulta de revisión	6,5	1,27

**Tabla 2.** Niveles de tacrólimus y creatinina antes, durante y después del episodio de intoxicación farmacológica. Elaboración propia.

la interacción con otros fármacos.

#### **BIBLIOGRAFÍA GENERAL**

- Andrews LM, Li Y, De Winter BCM, Shi YY, Baan CC, Van Gelder T, Hesselink DA. Pharmacokinetic considerations related to therapeutic drug monitoring of tacrolimus in kidney transplant patients. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2017; 13(12):1225-1236
- Lemaitre, F. et al. Therapeutic drug monitoring and dosage adjustments of immunosuppressive drugs when combined with nirmatrelvir/ritonavir in patients with COVID-19. *Ther. Drug Monit.* 2022; 45(2): 191–199.
- Bestard O, Campistol JM, Morales JM, Sánchez-Fructuoso A, Cabello M, Cabello V et al. Avances en la inmunosupresión para el trasplante renal. Nuevas estrategias para preservar la función renal y reducir el riesgo cardiovascular. *Nefrología* 2012; 32: 374-384.
- Vergara Chozas JM, Sáez-Benito Godino A, Barrera Ledesma M, García Álvarez T. Farmacología y monitorización de fármacos inmunosupresores en trasplantados renales. *Manual de Formación Continuada* 2014-2015: 87-107.

# 17- INTOXICACIÓN POR TACRÓLIMUS EN PACIENTE PEDIÁTRICO CON COLITIS ULCEROSA CORTICORRESISTENTE

**Autores:** María del Valle Romero Real; Julia Sanz Gómez; Jon Sánchez Munárriz.

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

**Palabras clave:** Colitis ulcerosa corticorresistente, Intoxicación, Tacrólimus

## 1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades inflamatorias intestinales (EII) son un conjunto de procesos inflamatorios crónicos que afectan al tracto digestivo y que engloban, principalmente, a la enfermedad de Crohn y a la colitis ulcerosa. En el primero de los casos, la inflamación de la mucosa se extiende por el conjunto del tracto gastrointestinal, mientras que, en el segundo, se limita al colon y recto.<sup>1</sup>

De las dos EII principales, la colitis ulcerosa (CU) es la forma más común en el mundo, registrándose anualmente entre 9 a 20 casos por cada 100.000 habitantes. Ésta fue descrita por primera vez en 1859 y, aunque se relaciona con desregulación de la respuesta inmunitaria, alteración de la microbiota intestinal, susceptibilidad genética o factores ambientales, su patogénesis exacta es aún desconocida en la actualidad.<sup>2,3</sup>

La principal manifestación clínica de la CU es la diarrea sanguinolenta, que puede ir o no acompañada de dolor abdominal, tenesmo, malestar general, pérdida de peso y fiebre, entre otros. Esta combinación de síntomas apoyado en hallazgos encontrados en endoscopia, biopsia y examen de heces negativo por causas infecciosas permiten el diagnóstico de la patología. Otras pruebas de relevancia incluirían la elevación de marcadores inflamatorios tales como proteína C reactiva (PCR), especialmente en un brote agudo. Una vez realizado el diagnóstico, sistemas de clasificación como el de Montreal permiten conocer el alcance y la gravedad de la enfermedad. Este sistema clasifica la CU en los siguientes tipos:<sup>1,2,3</sup>

- Leve: hasta 4 deposiciones con sangre por día, con pulso, temperatura, concentración de hemoglobina y velocidad de sedimentación globular (VSG) normal.
- Moderada: entre 4 y 6 deposiciones con sangre por día, sin signos de compromiso sistémico.
- Grave: más de 6 deposiciones con sangre al día, con signos de compromiso sistémico (temperatura >37,5°C, frecuencia cardíaca >90/min, hemoglobina <10,5 g/dL o VSG >30 mm/h).

En pacientes pediátricos, la colitis ulcerosa parece manifestarse de manera más agresiva, con síntomas de moderados a graves que requieren una intensificación de las terapias médicas y quirúrgicas. Así, mientras que en adultos la afectación suele restringirse al área rectosigmoidea del colon, en el 80% de los pacientes pediátricos el conjunto del colon se encuentra afectado (pancolitis).<sup>4</sup>

El tratamiento de la colitis ulcerosa pediátrica tiene como objetivo inducir y mantener la remisión de la enfermedad, a la vez que prevenir el desarrollo de cáncer, mejorar la calidad de vida y facilitar un desarrollo y crecimiento normales de los pacientes. En sus formas leve o moderada, la CU tiene como primera línea de tratamiento recomendada el ácido 5-aminosalicílico (5-ASA), mientras que para los casos graves es preciso suministrar corticosteroides sistémicos. Sin embargo, hasta el 20% de los pacientes con CU grave presenta resistencia al tratamiento con corticoides. En estos casos de corticorresistencia, se contempla recogido en la bibliografía la terapia farmacológica con inhibidores de la calcineurina o agentes anti-factor de necrosis tumoral (anti-TNF- $\alpha$ ) para la inducción y mantenimiento de la remisión de la enfermedad moderada a grave.<sup>4</sup>

## 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

### 2.1 Motivo de consulta:

Paciente de 3 años y 7 meses que ingresa a cargo del Servicio de Medicina Digestiva Pediátrica por reaparición, desde hace 7-10 días, de deposiciones con sangre (3-4/día) asociadas a fiebre, hiporexia, irritabilidad y afectación del estado general, en el contexto de colitis ulcerosa.

### 2.2 Antecedentes personales:

La paciente fue diagnosticada en junio de 2022 de enfermedad inflamatoria intestinal tipo colitis ulcerosa (pancolitis) sin signos de inmunodeficiencia y/o enfermedad monogénica. Desde entonces, ha seguido las siguientes líneas terapéuticas:

- Primera línea de tratamiento: Corticoesteroides sistémicos (metilprednisolona) y mesalazina, de acuerdo a su estadiaje de colitis ulcerosa grave (clasificación de Montreal). A pesar de una respuesta inicial favorable, la paciente evoluciona presentando diarrea sanguinolenta y anemización.
- Segunda línea de tratamiento: Infliximab, anticuerpo biológico monoclonal con potente acción antiinflamatoria. Se administró una dosis cada 4 semanas con reducción progresiva de corticoides orales, tras resistencia al tratamiento con los mismos y objetivarse inflamación grave mediante rectosigmoidoscopia. La paciente padece recaídas clínicas de intensidad variable, con mejoría rápida tras la infusión del agente biológico infliximab, siempre administrado en niveles infraterapéuticos.

### 2.3 Antecedentes familiares:

La paciente no presenta antecedentes familiares de interés.

### 2.4 Enfermedad actual:

En el momento actual, la paciente acude por persistencia de deposiciones líquidas explosivas sanguinolentas. Debido a las características de colitis con úlceras profundas en colonoscopia, comportamiento corticorresistente sin respuesta a tiopurinas ni a infliximab intensificando dosis y frecuencia, se aprueba desde la Dirección Médica del hospital el uso compasivo de vedolizumab, junto con tacrólimus oral iniciado previamente.

El tratamiento con el anticuerpo monoclonal vedolizumab está indicado para el tratamiento de la colitis ulcerosa activa en pacientes adultos que hayan tenido una respuesta inadecuada, presenten pérdida de respuesta o sean intolerantes al tratamiento convencional.<sup>5</sup>

Por su parte, tacrólimus es un macrólido con actividad inmunosupresora que tiene como indicaciones terapéuticas la profilaxis del rechazo de trasplante en receptores de aloinjertos de riñón, hígado y corazón y para el tratamiento en caso de rechazo y resistencia a otros tratamientos con medicamentos inmunosupresores. También se recoge en la bibliografía, aunque no esté indicado en su ficha técnica, el empleo de tacrólimus en patologías inflamatorias intestinales corticorresistentes, como el caso en estudio.<sup>6</sup>

Tras unos días con esta nueva línea terapéutica, se observa una mejora del estado general y desaparición de la fiebre, aunque aún las deposiciones contienen restos hemáticos. Se procede a dar el alta a la paciente tras optimizar dosis de tacrólimus e iniciar dosis de inducción de vedolizumab.

### 2.5 Exploración física:

A su llegada el día del ingreso, la paciente se muestra hidratada y perfundida a la exploración física, con abdomen blando, depresible, no distendido ni doloroso, ni megalias. A la inspección anal se observa mínimo colgajo cutáneo.

En cuanto a la talla, peso e IMC, se registran medidas que se alejan una desviación estándar (-1 DE) con respecto a las recomendaciones de la OMS.

## 3. INFORME DEL LABORATORIO

Desde el inicio de la tercera línea de tratamiento con tacrólimus el 17 de enero, los niveles en valle del fármaco en la paciente se mantienen estables (4,4 – 5,2 ng/mL) con valores conservados de creatinina (0,31-0,47 mg/dL). Sin embargo, el 06 febrero se registran unos niveles de tacrólimus en rango crítico (31,7 ng/mL), acompañados de un significativo incremento de creatinina plasmática (1,68 mg/dL), de modo que se comunican rápidamente al médico facultativo responsable.

El intervalo de referencia de creatinina en suero/plasma para un paciente adulto se encuentra entre 0,50-0,90 mg/dL y 0,70-1,20 mg/dL para género femenino y masculino, respectivamente. La creatinina, al ser un producto de degradación de la creatina fosfato muscular es dependiente de la masa muscular. Esto hace que sus niveles sean inferiores en la población pediátrica, siendo el intervalo de referencia para una edad comprendida entre 3 a 5 años de 0,31-0,47 mg/dL.<sup>7</sup> Esto hace que los valores registrados para la paciente pudieran no ser llamativos en la edad adulta, pero sí a resaltar en un paciente pediátrico.

Bioquímica: Glucosa: 94 mg/dL [60-100]; Creatinina: 1,68 mg/dL [0,31-0,47]; Sodio: 134 mEq/L [136-145]; Potasio: 6,72 mEq/L [3,50-5,10]; Cloruro: 99 mEq/L [98-107]; Proteínas totales: 7,9 g/dL [6,0-8,0]; Albúmina: 3,4 g/dL [3,8-5,4]; Calcio: 9,1 mg/dL [8,8-10,8]; ALT (GPT): 7 U/L [5-39]; Gamma-GT: 15 U/L [5-23]; Fosfatasa alcalina: 150 U/L [40-281]; Bilirrubina: 0,2 mg/dL [0,2-1,0]; Proteína C Reactiva: 1,46 mg/dL [0,10-0,50].

Unidad de Monitorización de Fármacos: Tacrólimus (LC-MS/MS\*): 31,7 ng/mL; Dosis/Intervalo: 2,4 mg cada 12 horas; Momento de extracción: Valle. \*LC-MS/MS: Cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (técnica de referencia).

Hemograma: Hematíes 3,89 xmill/uL [3,90-5,30]; Hemoglobina. 10,5 g/dL [11,0-14,0]; Hematocrito: 33,5 % [34,0-40,0]; VCM: 86,0 fl [75,0-87,0]; HCM: 27,0 pg [24,0-30,0]; CHCM: 31,4 g/dL [31,0-37,0]; RDW: 14,7 % [11,9-15,6]; Plaquetas: 998 x 1000/μL [200-450]; VPM: 6,0 fl [7,5-11,8]; Leucocitos: 18,7 x1000/μL [5,0-15,0]; Neutrófilos: 10,8 x1000/μL [1,5-8,0]; Neutrófilos %: 57,6; Linfocitos: 6,5 x 1000/μL [2,4-9,0]; Linfocitos %: 34,7; Monocitos: 1,2 x 1000/μL [0,2-1,0]; Monocitos %: 6,2; Eosinófilos 0,3 x 1000/μL [0,1-1,0]; Eosinófilos %: 1,4; Basófilos 0,0 x 1000/μL [0,0-0,1]; Basófilos %: 0,1.

## 4. DIAGNÓSTICO Y EVOLUCIÓN

Los padres de la paciente, ahora en domicilio, son notificados de los niveles críticos de tacrólimus (31,7 ng/mL) y su consecuente toxicidad renal (creatinina 1,6 mg/dL) con la indicación de interrumpir la administración del inmunosupresor temporalmente, así como de incrementar abundantemente la hidratación oral.

En los sucesivos controles de la monitorización del fármaco, recogidos en la Tabla 1, se evidencia una regulación de los niveles de tacrólimus, así como una conservación de la función renal. Tras la normalización de los niveles 48h más tarde a la intoxicación, se procede a reanudar el tratamiento.

En el momento actual, la paciente se encuentra afebril, con mejoría de la ingesta y del estado general. En cuanto a las manifestaciones clínicas propias de su patología, presenta

Fecha	12/01	17/01	20/01	25/01	30/01	06/02	07/02	08/02	13/02	20/02
Tacrólimus (ng/mL)		4,9	5,0	4,4	5,2	<b>31,7</b>	15,9	4,6	9,1	7,1
Creatinina (mg/dL)	0,23	0,30	0,27	0,27	0,37	<b>1,68</b>	0,77	0,38	0,30	0,39

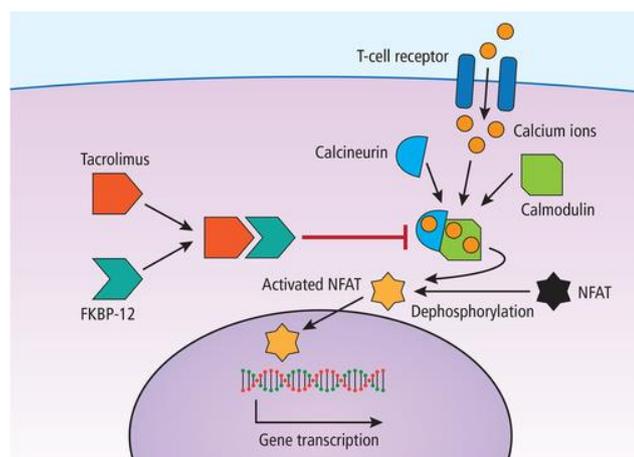
Tabla 1. Monitorización de los niveles de Tacrólimus. Elaboración propia.

deposiciones (3-4/día), pastosas y sin sangre ni moco evidente. Como consecuencia a su respuesta favorable, por el momento continúa en tratamiento con vedolizumab-tacrolimus.

## 5. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

Tacrolimus, también conocido como FK506, es un macrólido con un anillo de lactona, que debido a su actividad inmunosupresora es empleado como principal tratamiento profiláctico del rechazo de órganos en el 90% de los trasplantes. Además, su eficacia reduciendo la activación del sistema inmunitario también lo convierte en adecuado candidato en el tratamiento de enfermedades autoinmunes como la enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, artritis

reumatoide, psoriasis o lupus, a pesar de no quedar recogido explícitamente en su ficha técnica.



**Figura 1.** Mecanismo de acción del Tacrolimus. Tomado de: Biddle et al, 2019.

En función de su mecanismo de acción, tacrolimus se clasifica como inhibidor de la activación de células T por actuación sobre la calcineurina. Los inhibidores de la calcineurina se unen a proteínas intracelulares denominadas inmunofilinas, proteínas de unión a tacrolimus o FKBP-12, concretamente para este fármaco. Este complejo tacrolimus-inmunofilina se une a la calcineurina bloqueando su actividad fosfatasa y, consecuentemente, evitando que los factores de transcripción que debía desfosforilar accedan al núcleo. Como consecuencia, se inhibe la transcripción de la síntesis de citocinas e interferón y, por consiguiente, se produce una inhibición de la activación y proliferación de las células T. Esta inhibición conlleva al bloqueo de la síntesis de una serie de interleucinas, como la IL-2 e IL-4, interferón gamma y factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ).<sup>8,9</sup> Figura 1.

Los inhibidores de la calcineurina son compuestos liposolubles de compleja farmacocinética y elevada variabilidad intra e interindividual. La administración de los mismos puede realizarse por vía oral o intravenosa, presentando una biodisponibilidad reducida (20-25%). En el caso de administración oral, tacrolimus se absorbe fundamentalmente en duodeno y yeyuno. Una vez alcanza

el intestino, es sustrato de la glicoproteína P, una proteína transportadora de membrana que regula su paso desde los enterocitos hasta el espacio extracelular en un proceso dependiente de ATP. Una vez en el torrente sanguíneo, el inmunosupresor será distribuido en un 60% por unión a los eritrocitos (40% restante unido a albúmina) hasta alcanzar el hígado donde es desmetilado e hidroxilado por las isoformas 3A4 y 3A5 del citocromo P450. El tiempo de semivida de su principal metabolito, el 13-O-demethyltacrolimus es variable y se elimina en un 90% por vía biliar, siendo la eliminación renal inferior al 1%.<sup>8</sup>

Los polimorfismos genéticos para estas isoformas del citocromo P450, así como para la glicoproteína P, contribuyen a esta variabilidad interindividual en la farmacocinética de tacrolimus, que también puede verse afectada por factores exógenos tales como el periodo de ayuno, la presencia de alimentos ricos en grasas en la dieta, la diarrea, o las interacciones farmacológicas en pacientes polimedificados.<sup>10</sup>

La intoxicación por tacrolimus tiene lugar cuando se alcanzan en plasma niveles superiores a los 30 ng/mL, aunque para pacientes pediátricos se ha registrado nefrotoxicidad y neurotoxicidad para niveles medios de 11,7 y 15,1 ng/mL de tacrolimus, respectivamente. Este suceso, de naturaleza infrecuente, requiere de una atención médica inmediata y puede tener como consecuencia efectos adversos graves. La causa de ello suele encontrarse en la interacción de tacrolimus con otros fármacos o en episodios diarreicos, principalmente. En este último caso, los niveles sanguíneos de tacrolimus pueden cambiar significativamente. De ahí que se recomiende una monitorización estrecha de sus niveles.<sup>11,12</sup>

En el caso descrito, la paciente presentó una elevación de los niveles sanguíneos de tacrolimus debido a una crisis diarreica. El mecanismo por el cual un cuadro diarreico puede alterar la farmacocinética habitual puede ser multifactorial. En primer lugar, en esta situación fisiológica, los enterocitos se encuentran dañados a consecuencia de la inflamación intestinal. Esto podría reducir la actividad enzimática de los sistemas que participan de su metabolismo (glicoproteína P y CYP3A) y, consecuentemente, elevar sus niveles plasmáticos. En segundo lugar, el menor tiempo de tránsito en el intestino debido a la diarrea, ocasionaría una mayor cantidad del fármaco que alcanza el colon, donde una menor actividad metabólica de CYP3A podría resultar en una mayor absorción. Otras explicaciones adicionales asociadas al cuadro clínico recogidas en la bibliografía incluyen la hemoconcentración, el metabolismo hepático reducido y el ayuno.<sup>13</sup>

Ante una intoxicación por tacrolimus la principal y más inmediata respuesta es la interrupción de la medicación, así como el tratamiento de los síntomas desarrollados. No existe un antídoto específico para este fármaco y, por su elevado peso molecular, baja solubilidad y alta afinidad por las proteínas plasmáticas y hemáticas, no es fácilmente dializable. Queda recogido, sin embargo, en varias publicaciones el empleo de fármacos inductores del CYP3A4, que aumenten el metabolismo del tacrolimus y reduzcan así los niveles plasmáticos; o bien que regulen la

actividad de la glicoproteína P.<sup>6,11</sup>

En la práctica clínica, la monitorización terapéutica de fármacos (TDM) es obligatoria para aquellos fármacos inmunosupresores que presenten un margen terapéutico estrecho y una elevada variabilidad farmacocinética intra e interindividual. En esta paciente será necesario monitorizar el fármaco de manera regular continuada y de forma extraordinaria ante nuevos cuadros diarreicos a fin de evitar un nuevo episodio de toxicidad.<sup>8</sup>

#### BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. Wu B, Tong J, Ran Z. Tacrolimus Therapy in Steroid-Refractory Ulcerative Colitis: A Review. *Inflamm Bowel Dis.* 2020; 26(1):24-32.
2. Kobayashi T, Siegmund B, Le Berre C. et al. Ulcerative Colitis. *Nature Reviews.* 2020; 6:74.
3. Lynch WD, Hsu R. Ulcerative Colitis. [Internet]. Univ of Calif, Davis, School of Medicine; 2022 [revised 2022 Jun 11, cited 2023 March 04]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459282/>.
4. Bradley G, Oliva-Hemker M. Pediatric ulcerative colitis: current treatment approaches including role of infliximab. *Biologics: Targets and Therapy.* 2012; 6:125-134.
5. Entyvio Entyvio, INN-vedolizumab. Ficha Técnica del medicamento. Agencia española de medicamentos y productos sanitarios (AEMPS). [https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/114923001/FT\\_114923001.html](https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/114923001/FT_114923001.html)
6. Tacrólimus. Ficha Técnica del medicamento. Agencia española de medicamentos y productos sanitarios (AEMPS). [https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/73744/FT\\_73744.pdf](https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/73744/FT_73744.pdf)
7. Schlebusch H, Liappis N, Kalina E, et al. High Sensitive CRP and Creatinine: Reference Intervals from Infancy to Childhood. *J Lab Med.* 2002; 26:341-346.
8. Vega Toribio V, Crespo Barrio M, Marín Casino M. Monitorización de los inhibidores de la calcineurina. *Curso de Monitorización de fármacos. Form. Cont. Lab. Clin;* 2022. 60: 14-28.
9. Biddle K, Ahmed H. Tacrolimus. *Practical Diabetes.* 2019; 36: 33-35.
10. Távira B, Díaz-Corte C, Coronel D et al. Farmacogenética del tacrólimus: ¿del laboratorio al paciente? *Revista Nefrología. Órgano Oficial de la Sociedad Española de Nefrología.* 2014; 34(1): 11-7.
11. Bax K, Tijssen J, Rieder M et al. Rapid resolution of tacrolimus intoxication-induced AKI with a corticosteroid and phenytoin. *The Annals of pharmacotherapy.* 2014;48(11):1525-8
12. Staatz C, Taylor P, Lynch S et al. A Pharmacodynamic Investigation of Tacrolimus in Pediatric Liver Transplantation. *Liver Transpl* 2004. 10:506 –512.
13. Van Boekel GA, Aarnoutse RE, Van der Heijden JJ, et al. Effect of mild diarrhea on tacrolimus exposure. *Transplantation.* 2012. 15;94 (7):763-7.

# 18- TERAPIA FETAL CON DIGOXINA. POSIBLES INTERFERENCIAS

**Autores:** Mónica Pascual Ramírez de Arellano, Fernando Calvo Boyero.

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

**Palabras clave:** Digoxina, Taquicardia supraventricular fetal.

## 1. INTRODUCCIÓN

Las arritmias fetales se definen como cualquier alteración del ritmo cardiaco no asociado a una contracción uterina o cualquier ritmo inferior a 100 latidos por minuto (lpm) o superior a 160 lpm. Son diagnosticadas en 1-2 de cada 100 gestaciones. La mayoría son detectadas durante el tercer trimestre de gestación y en el 90% de los casos no presentan repercusión clínica alguna al ser resultado de extrasístoles debidas a la inmadurez auricular. No obstante, deben ser adecuadamente valorables por la potencial morbilidad y mortalidad fetal o neonatal que conllevan algunas de ellas.

El riesgo de esta patología radica en aquellas situaciones en las que la taquicardia se mantiene en el tiempo, de forma que puede producirse una disfunción miocárdica en el feto que origine insuficiencia cardiaca congestiva y secundariamente hidrops no-inmune, polihidramnios y edema placentario, con posible resultado final de muerte fetal.

Su evaluación se debe basar en la ecocardiografía, con la que se puede valorar tanto las características del ritmo fetal y la asociación a anomalías estructurales cardiacas como su repercusión hemodinámica.

Una de las arritmias prenatales más frecuente es la taquicardia fetal, definida como un ritmo ventricular mayor de 180 lpm.

Los tipos más frecuentes de taquicardia fetal son:

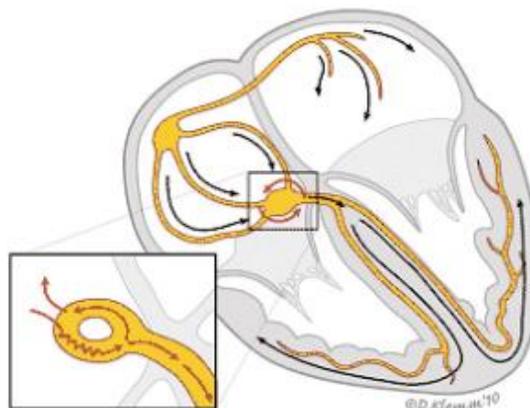
- Taquicardia supraventricular
- Flutter auricular
- Fibrilación auricular
- Taquicardia ventricular
- Taquicardia sinusal

De entre ellas, la taquicardia más frecuente es la taquicardia supraventricular, representando entre el 64-80%. Se caracteriza por una frecuencia acelerada entre 200-300 lpm cuya señal eléctrica se origina en el nódulo auriculoventricular. Figura 1.

El tratamiento que se suele emplear en estas situaciones es la administración de agentes antiarrítmicos. Los medicamentos más usados para el tratamiento de esta arritmia en los fetos son digoxina, flecainida, sotalol y amiodarona.

La digoxina es el fármaco empleado por excelencia en estos casos. Las principales diferencias con el resto son los efectos secundarios producidos y su mayor capacidad para atravesar la placenta.

Existen numerosos estudios que confirman que el



**Figura 1.** Nódulo auriculoventricular donde se generan las taquicardias supraventriculares. Tomado de: Almendral J et al, 2012.

tratamiento combinado de digoxina y flecainida es el que obtendría mejores resultados y un control más adecuado de la taquicardia fetal.

La digoxina es un fármaco que se utiliza desde hace más de 200 años, desde su descubrimiento en 1785 por William Whitering, extrayéndola de una planta muy común, la dedalera (*Digitalis purpurea*). Ha sido durante varios años el tratamiento clave para la insuficiencia cardiaca. Figura 2.

Se trata de un glucósido digitálico que actúa inhibiendo reversiblemente la ATPasa de sodio y potasio con efecto inotrópico positivo.

El bloqueo de la ATPasa  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  produce un incremento intracelular de sodio, y una reducción de la concentración intracelular de potasio. El aumento de la concentración de sodio activa a su vez la bomba  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ , lo que incrementa la entrada de calcio quedando disponible para la contracción de las proteínas aumentando así la contractilidad cardiaca.

Presenta una buena biodisponibilidad oral. Su eliminación se realiza en un 75-80% por vía renal de forma inalterada.

Uno de los grandes inconvenientes de este fármaco es que los síntomas de toxicidad que presenta suelen ser muy similares a las arritmias cardiacas contra las cuales precisamente se había recetado el fármaco. Además, posee un estrecho margen terapéutico, lo que hace que la intoxicación en terapias crónicas sea frecuente.

Las concentraciones séricas o plasmáticas de digoxina de 0.9-2.0 ng/mL se consideran generalmente terapéuticas. Los síntomas de toxicidad aparecen en los seres humanos con concentraciones superiores a los 2.0 ng/mL. Así, según la

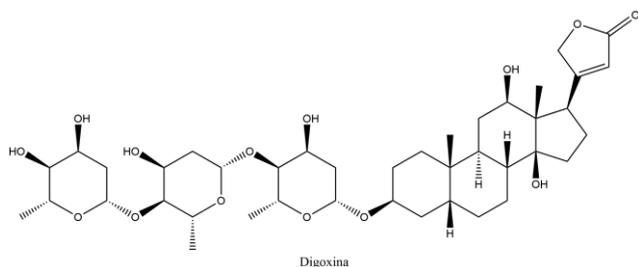
“Directiva del Grupo de Trabajo para el diagnóstico y tratamiento de las ICC de la Sociedad Europea de Cardiología de 2008” se recomienda fijar el intervalo de concentración terapéutica para la digoxina entre 0.6-1.2 ng/mL.

Además, hay que tener en cuenta, como en la mayoría de los fármacos, que la respuesta de la digoxina varía individualmente de paciente a paciente.

En nuestro laboratorio, la determinación de digoxina en suero o plasma se lleva a cabo mediante inmunoensayo de electroquimioluminiscencia “ECLIA” en un analizador Cobas e.

Algunas consideraciones importantes para tener en cuenta sobre el test empleado en nuestro laboratorio son:

- No se ve afectado por ictericia, hemólisis ni lipemia.
- En pacientes con tratamiento de altas dosis de biotina (>5 mg/día) no recoger la muestra antes de que hayan transcurrido, como mínimo, 8 horas tras la última administración.
- La espirolactona produce resultados de digoxina falsamente elevados cuando los niveles del fármaco superan los 15 mg/L.
- La uzara, nabumetona, hidrocortisona pentoxifilina y canrenona también han sido identificados como causantes de valores elevados falsos de digoxina.
- Se han encontrado sustancias con inmunoreactividad similar a la digoxina en la sangre de pacientes con insuficiencia renal, insuficiencia hepática y en mujeres que se encuentran en el tercer trimestre de embarazo.



**Figura 2.** Estructura química de la digoxina. Tomado de: quimicafacil.net

Dependiendo de la condición fetal y la edad gestacional en la que nos encontremos, podemos seguir dos posibles opciones: esperar a que finalice la gestación, controlando en todo momento la evolución tanto del feto como de la madre, y posteriormente aplicar un tratamiento al neonato, o, por el contrario, optar por la terapia fetal. Esta última se puede realizar por dos vías; mediante terapia fetal intraútero a través de la administración materna de las drogas (trasplacentaria) o bien a través de la inyección directa en el feto.

## 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

### 2.1 Motivo de consulta:

Mujer de 34 años gestante de 24+3 semanas que acude a Urgencias por episodios de fiebre de hasta 38.3 °C de dos días de evolución y cefalea. Refiere malestar general y tos desde hace 1 semana. Además, informa de disminución en la percepción de movimientos fetales desde hace 2 días.

A su llegada se le realiza una exploración física y una exploración obstétrica-ginecológica.

En el estudio ecocardiográfico de la gestante que se le realiza, observan una taquiarritmia mantenida a 277 lpm con intervalo de contracción auricular-ventricular (AV) menor que el intervalo de contracción ventricular-auricular (VA) (0.024 s < 0.0184 s). Además, existe una insuficiencia de las válvulas tricúspide.

En el feto se observa un deterioro considerable de su bienestar, observándose un edema subcutáneo de 8-10 mm a nivel cefálico y del tronco, y una cuantiosa cantidad de ascitis a nivel de la inserción umbilical. Se encuentra en situación de hidrops.

La analítica sanguínea de la madre no muestra alteraciones relevantes.

Con todo esto, el diagnóstico principal es taquicardia supraventricular fetal. Se consultó el caso con cardiología infantil y se propuso comenzar tratamiento con digoxina.

La finalización de la gestación no se plantea en este momento, puesto que la extracción fetal en esta edad gestacional y con la situación de hidrops en la que se encuentra, supone reducir de forma muy considerable las posibilidades de supervivencia con respecto a mantener el tratamiento antiarrítmico intraútero.

### 2.2 Antecedentes personales:

Entre los antecedentes personales destacan:

- Claustrofobia.
- Obesidad.
- Se le realizó una anexectomía izquierda por quiste anexial.
- No presenta hábitos tóxicos ni alergias conocidas.

### 2.3 Antecedentes familiares:

- Madre con cáncer de colon.
- Abuelo paterno con cáncer de páncreas.
- Tío paterno con cáncer de testículo.

## 3. EVOLUCIÓN

En el caso de nuestra paciente, en la que el feto todavía no había conseguido la madurez fetal en ese momento, la primera opción de tratamiento que se planteó fue la terapia transplacentaria con digoxina.

Normalmente es necesario usar dosis más altas de digoxina en mujeres embarazadas, debido a los incrementos en el volumen de sangre y las tasas de filtración glomerular asociadas con el embarazo.

Una vez comenzada la administración, se sometió a la paciente a un riguroso control analítico de los niveles de digoxina en sangre. La dosis materna se va reevaluando de acuerdo con la respuesta fetal, con una estrecha vigilancia. Tabla 1.

Fecha	Dosis diaria	Digoxina (ng/mL)
4/01/23	0.5 g/6h	1.4
5/01/23	0.5 g/12h	3.1
6/01/23 (8:00)	0.5 g/12h	2.1
6/01/23 (11:00)	0.5 g/12h	3.2
7/01/23	0.5 g/12h	2.6
8/01/23	0.5 g/12h	2.5
9/01/23	0.5 g/12h	2.7
10/01/23	0.5 g/12h	2.7
11/01/23	0.5 g/12h	3.1
12/01/23	0.5 g/12h	4.3
13/01/23 (00:36)	No se administra	4.2
13/01/23 (6:31)	No se administra	4.3
13/01/23 (13:38)	No se administra	3.4
14/01/23	0.25 g/8h	3.7
15/01/23 (8:28)	0.25 g/8h	4.0
15/01/23 (15:19)	0.25 g/8h	2.8
16/01/23	0.25 g/8h	4.5
16/01/23	0.25 g/8h	4.8
17/01/23	0.25 g/8h	4.0
19/01/23	No se administra	3.1
23/01/23	En domicilio	2.5
25/01/23	En domicilio	2.2
1/02/23	En domicilio	1.8

**Tabla 1.** Resultados obtenidos de las concentraciones de digoxina en nuestra paciente. Elaboración propia.

Antes de cualquier tratamiento con un agente antiarrítmico se debe realizar un electrocardiograma (ECG) materno.

Tras reunirse con el equipo de Cardiología Infantil, se acuerda comenzar con una dosis inicial de digoxina de 0.5 mg cada 6 horas vía oral para pasar posteriormente a dosis de mantenimiento de 0.5 mg cada 12 horas.

Desde el primer momento, se combinó el tratamiento de digoxina con flecaidina. Su dosis de mantenimiento fue 100 mg cada 8 horas.

Destacaron los valores tan altos de digoxina sin conseguir estabilizarlos con el paso de los días, por ello se retrasa el incremento de la dosis.

El día 12/01/23 alcanza un valor extremadamente alto (4.3 ng/mL), por lo que al día siguiente no se le administra el

fármaco. El día 14/01/2023 la paciente presenta vómitos sanguinolentos por lo que se decide trasladar a reanimación de maternidad para un mejor control y ajuste de la medicación.

El día 15/01/23 el feto se encuentra en todo momento en ritmo sinusal a 130 lpm sin episodios de taquicardia fetal.

El día 16/01/23 se vuelve a suspender la dosis de digoxina por presentar concentraciones superiores a 4 ng/mL.

Lo sorprendente es que, en los momentos con concentraciones de digoxina extremadamente altas, al realizarle un ECG a la madre, no tiene signos de franca impregnación, y, sobre todo, no hay datos compatibles con toxicidad. Sin embargo, en la ecocardiografía, cada vez son más duraderos los periodos de ritmo sinusal.

Al conseguirse una reversión de la taquicardia supraventricular y comprobar que la madre no presenta alteraciones en el ECG a pesar de las altas concentraciones de digoxina, se decide darle el alta el 19/01 siguiendo la pauta de 0,25 g de digoxina cada 12 horas y 100 g de flecaidina cada 8 horas.

En los próximos días, la paciente se somete a varios controles sin observarse cambios significativos. Sin embargo, se observa que en varias analíticas presenta una ratio de preeclampsia (sFlt1/PIGF) elevado. Por ejemplo, en la analítica del día 2/02 posee una ratio sFlt1/PIGF de 323.8. A pesar de este valor alarmante, la paciente se encuentra normotensa y asintomática, por lo que se interpreta que esta situación puede ser debida al contexto de hidrops en el que se encuentra el feto.

El día 6/02 acude a Urgencias por rotura prematura de membrana. Se traslada a la paciente a la unidad de trabajo de parto y recuperación (UTPR1), para administrarle maduración pulmonar, sulfato de magnesio como neuroprotector y antibioterapia con ampicilina/azitromicina.

En las horas siguientes se produce un parto eutóctico y nace un varón a las 7:15 horas, pero precisa de reanimación por parte del servicio de neonatología.

La madre presenta, inmediatamente después del parto, tensión arterial (TA) elevada. Se administra labetalol con posterior normalización.

En estas condiciones, el varón nació con 30+5 semanas de gestación, con un peso de 1450 g, por lo que tuvo que ingresar en neonatos. La evolución fue favorable y en los días siguientes se decide dar el alta.

#### 4. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

Desde el laboratorio se estudió la posibilidad de que los valores de digoxina estuviesen falsamente aumentados en dicha paciente. Por ello, se revisó la técnica empleada para su medición en nuestros equipos y sus posibles interferencias, y nos pusimos en contacto con el equipo de Roche Diagnostics con el objetivo de ver si se había realizado algún estudio previamente sobre dichas interferencias.

La primera hipótesis que se revisa es que estos valores de digoxina estén tan elevados debido a la presencia de factores inmunorreactivos en el embarazo similares a la digoxina. Estos factores inmunorreactivos reaccionan de forma cruzada

con los anticuerpos empleados en varios inmunoensayos actualmente disponibles para la determinación de digoxina, como es en el caso de nuestra técnica.

Consultando la bibliografía, se encontró un estudio en el que se procesaron varias muestras de pacientes que nunca habían estado expuestos a la digoxina pero que tienen condiciones patológicas capaces de aumentar las concentraciones de dichos factores inmunorreactivos en suero. Se midieron mediante 3 técnicas distintas:

- IMS-Digoxina: ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas
- FPIA: Inmunoensayo de polarización de fluorescencia
- CLIA: Inmunoensayo quimioluminiscente (Técnica empleada en nuestro laboratorio)

Los resultados mostraron que en varias muestras se observaron niveles aparentes de digoxina medibles mediante la técnica FPIA. Sin embargo, en ninguna de ellas se detectó digoxina cuando se emplearon las técnicas IMS-Digoxina o CLIA.

Con todo esto, se acordó con el departamento de aplicaciones de la casa comercial enviar 5 muestras de nuestra paciente. Se realizaron varios ensayos.

Una de las muestras se envió a un laboratorio externo y se midió en Abbot Alinity. Tabla 2. Se observa que ambos resultados son similares.

Cobas e602 (Roche Diagnostics)	Alinity i (Abbott)
3.1 ng/mL	3.30 ng/mL

**Tabla 2.** Comparación de los valores de concentración de digoxina medidos en dos equipos diferentes. Elaboración propia.

Se midieron 5 muestras en Cobas e602 para confirmar los resultados. Además, a dos de las muestras (1 y 5), se le añadieron anticuerpos heterófilos (HBT:Heterophilic Blocking Tube) para comprobar si dicha interferencia podía estar en las muestras. Tabla 3. No se observaron diferencias significativas entre los valores por nuestro laboratorio y los medidos por Roche. Además, no se pudo detectar ninguna diferencia entre los valores de concentración de las muestras no tratadas y las tratadas con anticuerpos heterófilos.

	Nuestro Laboratorio	Roche Diagnostics	HBT
1	3.1	3.03	2.96
2	2.7	2.51	
3	4.3	4.21	
4	4.3	4.14	
5	4.8	4.73	4.66

**Tabla 3.** Comparación de los valores de concentración de digoxina medidos en Cobas e602 en nuestro laboratorio y en el laboratorio de Roche. Elaboración propia.

Otros ensayos demostraron que tampoco hay factores de interferencia contra la estreptavidina.

Una de las muestras, se investigó con más detalle realizándole una cromatografía de exclusión por tamaño, cubriendo un rango completo de tamaño molecular de 0.2 a 970 KDa.

Las investigaciones no mostraron evidencia de la presencia de factores de interferencia de alto peso molecular. No se detectó IgG, IgM ni factores inmunorreactivos.

Con todas estas pruebas se puede concluir que los valores de digoxina de nuestra paciente se corresponden con valores positivos.

## 5. CONCLUSIONES

Con todo el estudio realizado por parte del laboratorio, se puede concluir que las concentraciones de digoxina medidas son realmente de la paciente y no se trata de ninguna interferencia de los equipos de medida.

Además, el objetivo principal de la digoxina se cumplió, ya que se consiguió revertir la taquicardia supraventricular fetal.

## BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Almendral J, Castellanos E, Ortiz M. Paroxysmal supraventricular tachycardias and preexcitation syndromes. Revista Española de Cardiología (English Edition).2012. 65(5),456-469.
- Dasgupta A, Kang E, Datta P. New Enzyme-Linked Immunosorbent Digoxin Assay on the ADVIA® IMS™ 800i System Is Virtually Free from Interference of Endogenous Digoxin-like Immunoreactive Factors. Therapeutic drug monitoring, 2005. 27(2), 139-143.
- Elecsys Digoxin V 5.0. Roche Diagnostics, 2022. Disponible en: <https://elabdoc-prod.roche.com/eLD/api/downloads/6a31b7ce-e07d-ec11-0d91-005056a772fd?countryIsoCode=es>
- Sánchez-Tejedor P, Domínguez-Rodríguez M, Soldevilla S, Delgado F, Martín-Gutiérrez AR. Taquicardia supraventricular fetal, diagnóstico y tratamiento

prenatal. Clínica e Investigación en Ginecología y Obstetricia. 2011. 38(5), 202-206.

- Vila-Vives JM, Martínez-Varea A, Hidalgo-Mora JJ, Maiques V, Perales-Marín A. Evolución y manejo intrauterino de las taquicardias fetales. Progresos de Obstetricia y Ginecología. 2012. 55(10), 495-500.

# BLOQUE V

---

# GESTIÓN Y CALIDAD

# 19- ACREDITAR Y CERTIFICAR UN LABORATORIO CLÍNICO EN UN MISMO PROCESO MEDIANTE LA CREACIÓN DE UNA HERRAMIENTA. COMPARACIÓN DE LAS NORMAS ISO 9001: 2015 E ISO 15189:2012.

**Autor:** Daniel Párraga García\*, Ángel Camilo López Regueiro\*, José Miguel Comino Cáceres

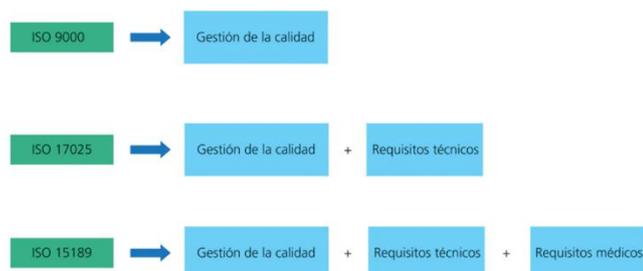
\*Ambos autores han colaborado de forma equitativa en la redacción del texto.

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

**Palabras clave:** ISO 9001: 2015, ISO 15189:2012

## 1. INTRODUCCIÓN

La norma ISO 9001: 2015 es el modelo más utilizado para la certificación de la gestión de la calidad en todo tipo de sectores, potenciando un enfoque hacia la mejora continua y hacia la gestión eficiente. Aunque no es específica de laboratorios clínicos, muchos de ellos optan por esta norma para implementar un modelo de calidad, generalmente como paso previo a la implantación de un sistema normativo de acreditación. Como norma específica de los laboratorios clínicos existe la norma ISO 15189:2012, que incluye todos los requisitos de calidad, técnicos y médicos que deben cumplir los laboratorios clínicos para obtener el reconocimiento externo de su competencia técnica para la realización del análisis.



**Figura 1.** Relación entre los requisitos de las normas ISO aplicables al laboratorio clínico. ISO 9001 de Gestión de la Calidad. ISO 17025 de Ensayo y Calibración. ISO 15189 de Laboratorio Clínico. Elaboración propia.

Podría pensarse que la norma ISO 15189:2012 es superior pues a la 9001: 2015, no obstante hay que tener en cuenta distintas situaciones, ya que la ISO 15189:2012 está enfocada a la realización de pruebas de laboratorio, las cuales son las que reciben finalmente la acreditación. Es por ello que para la mayor parte de las situaciones es el sistema de calidad a seguir. Sin embargo, esta norma no cubre una necesidad que puede presentarse en aquellos servicios que no solo se encarguen de la realización y emisión de informes de pruebas de laboratorio, sino que también tenga una parte clínica que involucre un trato más directo con el paciente, como podría ser la gestión de consultas clínicas. Este sería el caso de servicios como Hematología o Genética. Prueba de ello es que las sociedades científicas de Genética recomiendan trabajar

con ambos sistemas, aplicando la ISO 9001: 2015 para los procesos de gestión de las consultas y la ISO 15189:2012 para la acreditación de las pruebas e informes emitidos.

Este modelo de acreditación está bastante extendido por Europa. Los países pioneros en aplicar la ISO 15189:2012 fueron Dinamarca y Alemania.

En Alemania es obligatoria la acreditación de los laboratorios de cribado neonatal, incluyendo los test genéticos incluidos en el cribado como la detección de mutaciones de fibrosis quística. En Bélgica la acreditación es obligatoria para todos los laboratorios de biología molecular.

Al ser la norma ISO 9001: 2015 más genérica y flexible, esta se ha ido adaptando a los laboratorios de tal forma que decir que se parece a la más rígida norma de acreditación ISO 15189:2012 sería quedarse corto, ya que, como veremos a continuación, más del 90% del contenido de ambas normas podría convivir de manera que no sería necesario trabajar por duplicado para que ambos sistemas de calidad coexistan en un mismo servicio.

Cuando se publicó la norma ISO 15189:2012, ENAC realizó una tabla comparando la norma ISO 9001: 2015:2008 que por aquel entonces es la que se utilizaba. En el año 2015 se publicó una versión muy diferente de la ISO 9001: 2015, empleada actualmente, sin que se encuentre documentada ninguna tabla que compare dichas normas. Así pues, uno de los objetivos de este trabajo es el de publicar dicha tabla para hacer más asequible el tránsito de una norma a otra o la convivencia de las mismas.

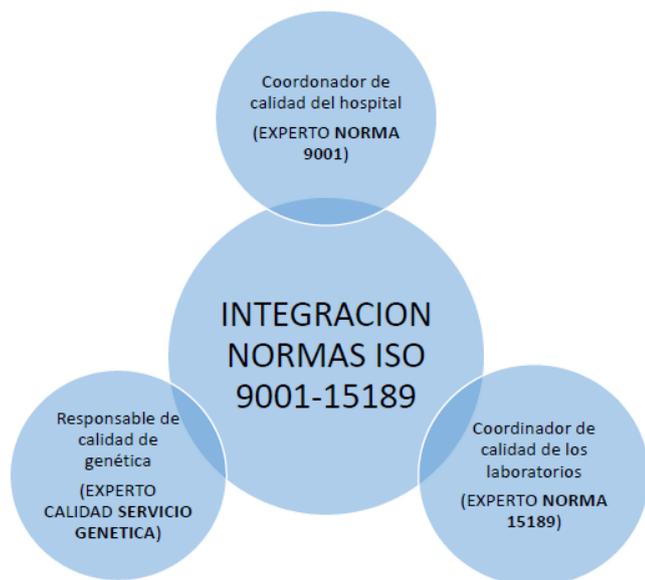
## 2. OBJETIVOS

El objetivo de trabajo realizado por los laboratorios fue el elaborar, punto por punto, la comparación entre las normas para poner en común las similitudes y diferencias de manera que se puedan detectar aquellas tareas comunes a ambas y las diferentes, con los objetivos de no duplicar el trabajo, adaptar la documentación y conocer la carga extra de incluir los aspectos de ISO 9001: 2015 no existentes en ISO 15189:2012. Asimismo, se pretende diseñar una lista de verificación ("checklist") con los ítems

a analizar en las auditorías de ambas normas en conjunto.

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

El proyecto comienza con la reunión periódica de 3 profesionales expertos en las distintas áreas de conocimiento implicadas; el responsable de calidad de los laboratorios experto en norma 15189:2012, el responsable de calidad del hospital experto en la norma ISO 9001:2015, y el responsable de calidad de genética.



**Figura 2.** Infografía proyecto de colaboración. Elaboración propia.

Tras organizar el trabajo, se comparan punto por punto ambas normas, realizándose una tabla donde se revisa la documentación y requisitos exigidos por cada una de ellas.

### 4. RESULTADOS

Tras realizar el proyecto, se obtienen como entregables los siguientes resultados:

- Una tabla con todos los ítems de ambas normas y su comparación, determinando los puntos comunes y diferentes, así como el análisis de la carga extra que supone incluir ISO 9001:2015 en ISO 15189:2012. En total, los ítems comunes son (32) y los no comunes (10).
- Una lista de verificación (“checklist”) con los ítems a analizar en las auditorías de ambas normas en conjunto.

Las principales similitudes entre ambas normas se citan en la siguiente tabla:

Aspectos comunes de las normas ISO 15189:2012 e ISO 9001:2015	
4.3 y 4.4 Determinar el alcance del SGC y sus procesos	8.2.2 determinación de los requisitos para los productos y servicios.
5. Liderazgo	8.4.3 información para los proveedores externos
6.2. Objetivos de la Calidad y planificación para lograrlos	8.5 producción y provisión del servicio.
7. Apoyo (salvo 7.5 Información documentada)	9. Evaluación del desempeño
8.1. Planificación y control operacional.	10. Mejora.
8.2.1 comunicación con el cliente.	

**Tabla 1.** Aspectos comunes de las normas ISO 15189:2012 e ISO 9001:2015. Elaboración propia

A continuación, se detallan las principales diferencias 9001:2015

- La norma ISO 15189:2012 no separa procesos en los tres tipos de clases estratégicos, apoyo y operativos. Solo cita procesos operativos, que los nombra como procesos de trabajo. En la norma ISO 9001:2015 se deben de documentar claramente estos tres tipos de procesos.
- La norma ISO 15189:2012 hace una anecdótica mención de la gestión del riesgo, pasando ésta a un segundo plano. En la norma ISO 9001:2015 la gestión del riesgo es un pilar fundamental que se materializa con las herramientas de análisis DAFO (Figura 3) o la Matriz de riesgos.
- La planificación de los cambios grandes no se menciona de forma explícita en la ISO 15189:2012,



**Figura 3.** Análisis de contexto DAFO. Elaboración propia

hecho que si ocurre en la norma ISO 9001:2015,

quedando registrado los resultados de la revisión de los cambios, las personas que autorizan el cambio y cualquier acción necesaria que surja de la revisión.

- La ISO 9001:2015 incluye criterios para la evaluación de proveedores internos y comunicación a ellos de que van a ser evaluados. Contempla también un apartado dedicado a asegurar propiedad de proveedores externos. Esto no está presente en ISO 15189:2012
- Con respecto al control de los procesos, productos y servicios proporcionados externamente, como norma general en ISO 15189:2012 se acreditan pruebas de laboratorio que se realizan en el mismo, siendo rara la ocasión en la que se subcontratan estos análisis. En caso de hacerlo, debe de quedar claramente documentado en el informe que los resultados se han realizado en otro laboratorio, y debe de ser un laboratorio acreditado por ENAC. En ISO 9001: 2015 se debe de hacer el control de dichos procesos, si bien al ser una norma más genérica no requeriría que se cumplan los mencionados requisitos.
- La norma ISO 15189:2012 te obliga a participar en programas externos de intercomparación entre laboratorio para asegurar la calidad de los resultados emitidos, mientras que esto no es un requisito obligatorio para certificar el laboratorio por la norma ISO 9001:2015, siendo solo una acción recomendable.
- La norma ISO 15189:2012 matiza sobre cómo actuar frente a un cambio en el resultado del informe. Se debe de realizar un procedimiento técnico de trabajo donde se debe de indicar cómo proceder, quedando claramente identificado la fecha del cambio, que parámetro ha sido cambiado, un registro del informe antes del cambio y un medio de comunicación al peticionario que garantice que este ha sido informado del mismo.
- En ISO 15189:2012, cuando se diseña un nuevo proceso de análisis, se debe de validar la técnica. Esto es aplicable a métodos caseros e internos. Este estudio es más complejo e implica análisis de detectabilidad, cuantificación, linealidad, interferentes, etc. Además de los estudios exigidos en la verificación de precisión y exactitud. En el caso de los métodos comerciales con el sello CE, solo hay que verificar lo que el fabricante ya ha validado. La norma ISO 9001:2015, en esta apartado, el 8.3, no suele aplicar para servicio hospitalarios.
- ISO15189:2012 te obliga a definir unas especificaciones de calidad de error máximo tolerable con las que el laboratorio se compromete a trabajar (Figura 4). Esto no es obligatorio en ISO 9001:2015.
- Con respecto al alcance flexible, ítem solo contemplado en la norma ISO 15189:2012, se debe de elaborar una documentación específica para poder obtener este tipo de acreditación. En la figura 5 se indica la documentación necesaria. Todo esto no sería obligatorio para obtener una certificación por ISO 9001:2015.

Una vez comparadas las dos normas que estamos evaluando, se procede a comprobar, con un ejemplo real de un servicio de Genética. Así pues, se realizan auditorías internas que evalúan ambas normas el mismo día, utilizando el *check-list* realizado. Tras la auditoría se emite un único informe donde se tratan las no conformidades vistas durante la auditoría, clasificándolas en aspectos comunes de ambas normas, y aspectos exclusivos de cada una de ellas. El informe se envía a los auditores externos tanto de la norma ISO 9001: 2015 como ISO 15189:2012, los cuales dan por bueno el documento. Finalmente el servicio de genética supera ambas auditorías, obteniendo la certificación por ISO 9001: 2015 y la acreditación ISO 15189:2012.

## Especificaciones de calidad

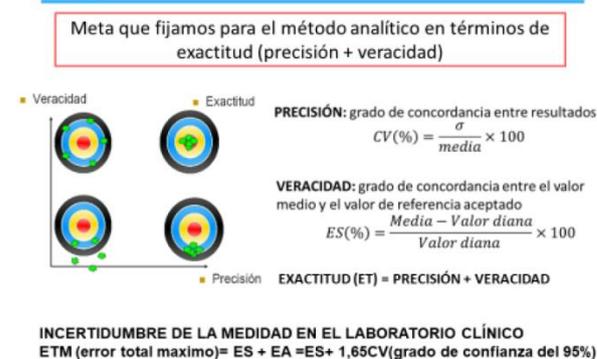


Figura 4. Cálculos para el cálculo de las especificaciones de calidad del laboratorio. Elaboración propia.

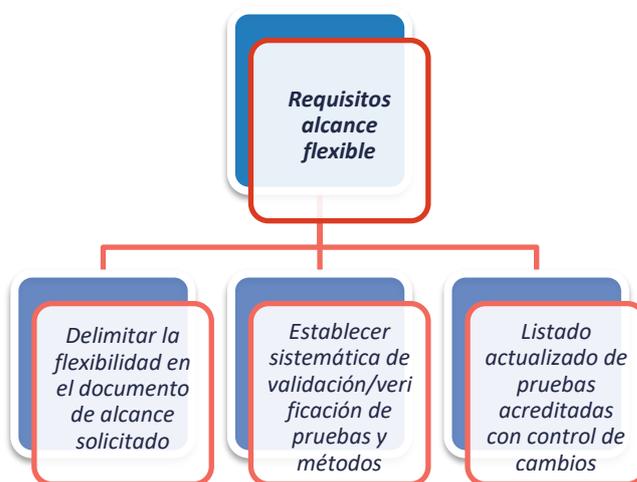


Figura 5. Documentos necesarios para obtener el alcance flexible. Elaboración propia.

## 5. CONCLUSIÓN

Las dos normas tienen un número considerable de aspectos comunes. Esto implica que la mayor parte del esfuerzo realizado para certificarse por ISO 9001: 2015 puede ser reutilizado para acreditarse por la norma ISO 15189:2012, de manera que no hay que trabajar por duplicado. Con un poco más de esfuerzo, ambas normas podrían convivir en un sistema común de gestión de la calidad.

## **BIBLIOGRAFIA**

- Asociación Española de Normalización. UNE-EN ISO 15189:2012. Laboratorios clínicos. Requisitos particulares para la calidad y la competencia. Madrid: Asociación Española de Normalización.
- Asociación Española de Normalización. UNE-EN ISO 9001:2015. Sistemas de gestión de la calidad. Requisitos. Madrid: Asociación Española de Normalización.

## **ENLACES DE INTERES**

<https://www.enac.es>

# 20- COMPARACIÓN DE LAS NORMAS UNE-EN ISO 15189:2023 Y 2012. SIMILITUDES Y DIFERENCIAS.

**Autores:** María del Valle Romero Real\*, Daniel Párraga García\*, Belén Ontañón Nasarre.

\*Ambos autores han participado de forma equitativa en la redacción del texto.

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

**Palabras clave:** UNE-EN ISO 15189:2023, UNE-EN ISO 15189:2012, Gestión de la Calidad.

## 1. INTRODUCCIÓN

Las necesidades actuales del sistema sanitario hacen fundamentales la garantía de la seguridad y la calidad mediante la certificación y/o acreditación de los servicios prestados. Esta herramienta proporciona confianza a los pacientes y gestores de los servicios sanitarios de que el laboratorio clínico ha superado una evaluación independiente y conforme a normas reconocidas internacionalmente y, por tanto, es competente para las labores que desempeña.

Las normas de la Organización Internacional de Normalización (ISO) son un conjunto de estándares con reconocimiento internacional creados con el objetivo de ayudar a las organizaciones a establecer unos niveles de homogeneidad en relación con la gestión, desarrollo y prestación de servicios.

Los Laboratorios Clínicos disponen actualmente de varias opciones para implantar un sistema de gestión de la calidad, ya sea aplicando los requerimientos de la norma UNE-EN ISO 9001:2015, certificando los diversos procesos del Laboratorio Clínico, o bien a través de los requisitos de la norma UNE-EN ISO 15189:2023, acreditando técnicas o determinadas pruebas específicas incluidas en sus carteras de servicios. En España, el único organismo nacional de acreditación, en aplicación del Reglamento CE 765/2008 del Parlamento Europeo, es la Entidad Nacional de Acreditación o ENAC.

La norma UNE-EN ISO 15189 establece los requisitos que debe cumplir un laboratorio clínico que desee implementar un sistema de gestión de la calidad con el fin de demostrar que es técnicamente competente y con la capacidad de producir resultados fiables. Esto permite asegurar que las decisiones clínicas son tomadas a partir de datos confiables, de manera que se incrementa la calidad diagnóstica y se minimizan los posibles riesgos en la seguridad del paciente.

Esta norma surge en 2003 como alternativa a la ISO/IC 17025 que recoge los requisitos que deben cumplir los laboratorios de ensayo y calibración, ya que las relaciones con los pacientes requerían unas consideraciones adicionales que la norma no recogía. Así, surge de manera específica la norma UNE-EN ISO 15189:2003, tomando como estándar y referencia las normas ISO 17025 e ISO 9001, incluyendo en ella todos los procesos preanalíticos, analíticos y posanalíticos y posicionando como eje principal de la actividad del laboratorio clínico la figura del

paciente.

Tras su publicación, la norma 15189 ha estado sujeta a una revisión menor en 2007 y una revisión mayor en 2012. Esta última no suponía grandes cambios en los requisitos, pero sí presentaba los contenidos mejor estructurados, con mayor claridad expositiva y facilitando su interpretación e implementación en la práctica asistencial.

El pasado 13 de enero de 2023, la ISO hacía pública la cuarta edición de la norma 15189 que anula y sustituye la norma EN-ISO 15189:2012, con el objetivo de alinear su estructura a las del resto de normas de evaluación de la conformidad ISO 17000 y, más concretamente, a la ISO 17025:2017 que recoge los Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración.

## 2. OBJETIVO

Se tiene por objetivo la comparación de la cuarta edición de la norma UNE-EN ISO 15189:2023 con aquella que anula y sustituye, UNE-EN ISO 15189:2012 con el fin de establecer sus principales similitudes y elementos distintivos.

## 3. MATERIALES Y MÉTODOS

Para el análisis comparativo de las normas UNE-EN ISO 15189:2012 y UNE-EN ISO 15189:2023 se llevó a cabo una tabla en la que quedaron recogidos los puntos del índice de la norma predecesora y su asociación con los correspondientes a la vigente. Asimismo, se recogió para cada uno de ellos un campo comparativo de similitudes y diferencias encontradas.

## 4. RESULTADOS

La distribución de contenidos en la norma UNE-EN ISO 15189:2012 abarcaba 5 bloques, siendo estos "Objeto y campo de aplicación", "Normas para consulta", "Términos y definiciones", "Requisitos de la gestión" y "Requisitos técnicos". Sin embargo, la norma UNE-EN ISO 15189:2023 se alinea estructuralmente con la norma UNE-EN ISO 17025:2017 y no con su predecesora. Se distribuye así en 8 bloques que incluyen "Objeto y campo de aplicación", "Normas para consulta", "Términos y definiciones", "Requisitos generales", "Requisitos estructurales y de gobernanza", "Requisitos de los recursos", "Requisitos del proceso" y "Requisitos del

sistema de gestión”.

Esta nueva organización de contenidos es uno de los principales cambios introducidos en la norma 2023 y tiene como consecuencia el desglose del punto 4 referido a los “Requisitos de la gestión” de la norma UNE-EN ISO 15189:2012, en los puntos 4, 5 y 8 correspondientes a “Requisitos generales”, “Requisitos estructurales y de gobernanza” y “Requisitos del sistema de gestión”. Asimismo, engloba algún subapartado de los puntos 6 y 7 correspondientes a “Requisitos de los recursos” y “Requisitos del proceso”, si bien estos en su conjunto son el traslado del punto 5 de “Requisitos técnicos” de la norma 2012.

De aquí en adelante se revisará la norma UNE-EN ISO 15189:2023 a partir de sus grandes bloques de contenido, referenciando los puntos de la norma 2012 con los que se correspondería y detallando las principales similitudes y diferencias encontradas.

El punto 4 correspondiente a “Requisitos generales” de la norma 2023 tiene como origen los subapartados 4.1.1.1-4.1.1.3 y 4.1.2.2 de la norma 2012. Cabe destacar que en ambos documentos se describe un similar tratamiento de la confidencialidad de los resultados emitidos de los pacientes, si bien en la vigente, se otorga mayor valor a la imparcialidad con la que el laboratorio debe ejecutar sus tareas, así como la importancia de identificar las posibles amenazas a dicha imparcialidad. Este análisis podría quedar descrito haciendo uso de herramientas como la matriz de riesgos o mediante un análisis de Debilidades, Amenazas, Fortalezas y Oportunidades (DAFO).

Los “Requisitos estructurales y de gobernanza” correspondientes al punto 5 de la norma 2023 recogen y actualizan los apartados comprendidos entre 4.1.1.4-4.1.2.7 de la norma 2012. En ambos casos quedan recogidas las competencias atribuidas al director del laboratorio, si bien en la norma 2012 queda detallada más explícitamente cada una de estas actividades. A pesar de ello, en la norma vigente surge la competencia por parte del director de laboratorio de gestionar e identificar los riesgos y derivar las oportunidades de mejora de ella. De aquí se extrae la segunda gran diferencia incorporada en la norma 2023 y que engloba un mayor énfasis en la gestión del riesgo.

Otros pequeños puntos de divergencia hallados en el punto 5 de la norma 2023 son la distinción entre usuarios externos (pacientes) y usuarios internos (clínicos peticionarios) en las “Actividades de asesoramiento” del punto 5.3.3 (4.1.2.2 de la norma 2012). Asimismo, la norma vigente describe de manera más pormenorizada los “Objetivos y Políticas” en su punto 5.5 (4.1.2.3-4.1.2.4 norma 2012) y otorga mayor peso a la existencia de un organigrama de la organización que recoja la ubicación de cada profesional responsable. (5.4 norma 2022; 4.1.2.5-4.1.2.7 norma 2012).

Los Requisitos de los recursos que se reúnen en el punto 6 de la norma 2022 incluyen los apartados 4.4-4.6, 5.1-5.3 de la norma 2012 y presentan como diferencias más reseñables, siendo el tercer gran punto de cambio de esta norma, la incorporación de los requisitos para los análisis realizados a la cabecera del paciente o POCT.

Concretamente, en este punto de la norma se establece una distinción entre los acuerdos con usuarios del laboratorio (6.7 norma 2022; 4.4 norma 2012) y los acuerdos con los operadores POCT, incluyéndose un anexo (A) en el que se concentran los requisitos adicionales para los POCT. Como materia a destacar en el listado de requisitos del anexo A, se registra la evaluación de formación y competencias del personal que efectúa los POCT. Además, debe existir un registro de los operadores POCT y estos deben seguir procedimientos establecidos (7.3 norma 2023).

Otros aspectos identificativos de estos apartados en la nueva norma se evidencian en el apartado 6.5.3 (5.3.1.4 de la norma 2012) donde se especifica por primera vez, para el caso de los análisis genéticos que debe establecerse la trazabilidad hasta las secuencias genéticas de referencia. También en relación con el análisis genético, En la norma 2022 se especifica que para pruebas identificativas el intervalo de referencia biológico es la característica a identificar (7.3.5 norma 2023)

Por su parte, el apartado 6.2 Personal (5.1 en la norma 2012) incorpora una sección para la autorización del personal en procesos tales como validar métodos, informar resultados o acceso a sistemas de información del paciente. Asimismo, cabe destacar la reducción en el número de requisitos que debe incorporar el registro de personal limitándose a competencias, descripción del puesto, entrenamiento y re-entrenamiento, autorización y seguimiento de competencias.

Los “Requisitos del proceso” recogidos en el punto 7 de la norma 2023 deriva de los subapartados 4.8, 4.9, 4.14, 5.4-5.10 de la norma 2012. A nivel conceptual, el cambio de los subapartados tales como “Quejas y Trabajo no conforme” desde un apartado de “Requisitos de la gestión” (punto 4, norma 2012) a “Requisitos del proceso” (punto 7, norma 2023) podría ser indicativo de que en estas competencias pasen a tener más implicación cada una de las unidades correspondientes.

Otros elementos de disparidad incluyen la incorporación en la norma 2023 las acciones a tomar en caso de no disponer de material de control de calidad interno (IQC) apropiado, así como alternativas aceptables para aquellos casos en los que no se disponga de programa externo de garantía de la calidad. Además, se recomienda que el cambio de lote del material IQC no coincida con el cambio de lote de reactivos y/o calibrador. (7.3.7.2 y 7.3.7.3 norma 2023). Se incluye asimismo diferentes formas de proceder para evaluar la incertidumbre de medición para aquellas variables que son cualitativas, no estando esto descrito en la versión anterior (7.3.4 norma 2023).

Por otra parte, se menciona la importancia de la estabilidad de los analitos a tener en cuenta entre el tiempo de la toma de muestra y realización del análisis (7.2 norma 2023), de modo que esta siga siendo idónea de para la realización de análisis adicionales (7.4.2 norma 2023) y si esto implica la modificación de los resultados informados, debe registrarse la razón que justifica el cambio efectuado (7.4.1.8 norma 2023). En relación a la emisión del informe también se incorpora un apartado que indica, cuando sea posible y necesario, la identificación

armonizada electrónica del mensurando y del principio de medición, proponiendo como ejemplos de identificación electrónica LOINC, NPU o NGC. (7.4.1 norma 2023).

Se incorpora asimismo en este punto y de forma novedosa en la norma 2023 un nuevo apartado para la planificación de la continuidad y preparación para emergencias (7.8 norma 2023).

El punto final de la norma 2023 y que recoge los "Requisitos del sistema de gestión" es el reflejo de los subapartados 4.2-4.3 y 4.10-4.15 de la norma 2012. El principal elemento distintivo, ya comentado con anterioridad, hace referencia a la mayor trascendencia concebida en la norma 2022 a la gestión del riesgo, de modo que en el punto 8.5 de Acciones para abordar los riesgos y las oportunidades de mejora se detalla pormenorizadamente las acciones para la identificación y actuación sobre los mismos. Asimismo, se hace referencia a otras normas para la gestión del riesgo en los laboratorios clínicos, gestión de riesgos biológicos, así como normas de referencia para identificar y abordar los riesgos. No se detalla qué herramientas utilizar para la evaluación de los riesgos si bien alguna de ellas podría ser la matriz de riesgos o AMFE.

Otros subapartados de este punto de la norma 2022 que ponen de manifiesto su carácter menos prescriptivo en el desempeño de los requisitos es el registro que debe incluir el Sistema de Calidad (8.4 norma 2023, 4.13 norma 2012), de modo que desaparece el listado con todos los registros necesarios. Desaparece asimismo tanto la necesidad del Manual de calidad como repositorio que recoja los documentos del sistema de gestión de la calidad (8.1 norma 2023, 4.2 norma 2012) como la recomendación de llevar a cabo a cabo una revisión anual del sistema (8.9 norma 2023, 4.15 norma 2012). Este carácter menos prescriptivo también se evidencia en que la norma vigente ya no incorpora el conjunto de requisitos que debe incluir un procedimiento analítico de trabajo (7.3.6 norma 2023).

## 5. CONCLUSIONES

La norma UNE-EN ISO 15189:2023 mantiene en su texto los requisitos establecidos en la anterior versión de la norma, adaptando su estructura a la recogida en las normas ISO 17000, incorporando los requisitos relativos a la actividad de los point of care testing o POCT, anteriormente descrita en la ISO 22870 y otorgando mayor relevancia al sistema de gestión del riesgo. Así pues, estos dos apartados deben de ser los puntos indispensables a trabajar para realizar la transición de un laboratorio acreditado por la vieja norma UNE-EN ISO 15189:2012 a la versión actualizada de 2023. Se pone así el foco en el beneficio del paciente y en el fomento de la mejora continua del laboratorio clínico. Todos estos requisitos se formulan de una forma menos prescriptiva, de modo que demostrar el cumplimiento de los mismos es posible llevarlo a cabo de manera más flexible.

Para su implementación, la organización internacional de acreditadores (ILAC) ha establecido un periodo de transición de tres años que permitirá a los laboratorios acreditados adaptarse a esta nueva revisión de la norma.

De este modo, a fecha de 6 de diciembre de 2025, los laboratorios acreditados de acuerdo a la UNE-EN ISO 15189:2012 y/o realicen análisis a la cabecera del paciente según la ISO 22870:2016, deberán haber sido evaluados y acreditados según esta nueva versión de la norma UNE-EN 15189. Una vez transcurrido este plazo, la norma exclusiva referente a los POCT quedará completamente anulada.

## 6. BIBLIOGRAFIA

- Bernabeu Andreu F, Izquierdo Álvarez S. Guía práctica para la implantación de un Sistema de Gestión de la Calidad (SGC) según la norma UNE-EN ISO 15189: 1ª ed. Barcelona: SEQC; 2011.
- Entidad Nacional de Acreditación (ENAC). ISO publica una revisión de la norma ISO 15189 de acreditación de laboratorios clínicos. [internet] 2023 [citado 12 mar 2023]. Disponible en: <https://www.enac.es/actualidad/nueva-revision-iso-15189>
- Entidad Nacional de Acreditación (ENAC). Los servicios acreditados por ENAC contribuyen a una mayor protección de nuestra salud [internet] 2022 [citado 12 mar 2023]. Disponible en: <https://www.enac.es/actualidad/dm-salud-2022>
- Entidad Nacional de Acreditación (ENAC). 10 years of ENAC clinical laboratory accreditation with the ISO 15189 standard [internet] 2013 [citado 12 mar 2023]. Disponible en: [https://www.enac.es/documents/7020/15694/Accreditation\\_news\\_70/4c516795-84af-4aaf-a886-b4e70351496a](https://www.enac.es/documents/7020/15694/Accreditation_news_70/4c516795-84af-4aaf-a886-b4e70351496a)
- Instrumentos científicos SA (ICSA). Origen y Evolución ISO 15189 [internet] 2022 [citado 12 mar 2023]. Disponible en: <https://www.icsa.es/anatomia-patologica/consultoria-de-laboratorios-clinicos/iso-15189>

# **BLOQUE VI**

---

# **HEMATOLOGÍA**

# 21 - ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOINMUNE: UN DESAFÍO PARA EL LABORATORIO DE INMUNOHEMATOLOGÍA

**Autores:** Antonio García Sánchez\*, Rafael Colmenares Gil\*, Rodrigo Íñiguez García.

\*Ambos autores han colaborado de forma equitativa en la redacción del texto.

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

**Palabras clave:** Anemia, Hemólisis, Anticuerpos calientes.

## 1. INTRODUCCIÓN

La anemia hemolítica autoinmune (AHA) se define por la destrucción de hematíes a través de mecanismos autoinmunes, usualmente mediados por autoanticuerpos con especificidad antieritrocitaria.

Estudios recientes estiman su incidencia en 5-10 casos por cada millón de habitantes en países occidentales. El 80-90% de los casos en adultos corresponden al grupo de las anemias hemolíticas autoinmunes producidas por anticuerpos calientes, llamados así porque tienen actividad aglutinante in vitro a 37°C.

El diagnóstico de la anemia hemolítica autoinmune por anticuerpos calientes suele partir de una sospecha clínica inicial, y se confirma ante la evidencia de: (1) hemólisis analítica (anemia con elevación de LDH y bilirrubina, reticulocitosis) y morfológica (presencia de esferocitos en el frotis de sangre periférica); (2) sensibilización de los hematíes (presencia de anticuerpos de clase IgG y/o moléculas C3d del sistema de complemento unidos a la superficie del eritrocito, lo que se traduce en una prueba de antiglobulina directa o test de Coombs directo; (3) ausencia de otras condiciones que puedan producir un test de Coombs directo positivo (fármacos, transfusiones, etiología paraneoplásica, disregulación autoinmune...).

## 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

### 2.1 Motivo de consulta:

Varón de 25 años, natural de China, residente en España desde los 4 años de edad, que consulta por astenia e ictericia.

### 2.2 Antecedentes personales:

- Infección por virus de la hepatitis B crónica de transmisión vertical, en estado de portador inactivo con respuesta viral sostenida según última serología previa (23/11/2021). *Fibroscan*® sin alteraciones en febrero de 2018. Adherencia irregular a profilaxis frente a la reactivación con entecavir.
- Inmunodeficiencia celular combinada diagnosticada en mayo de 2012 a raíz de estudio por linfopenia persistente. Depleción de linfocitos T y células NK, población B y estudio de inmunoglobulinas normales, con histórico de recuentos basales de linfocitos totales entre 500-800/ $\mu$ l. Seguimiento irregular por parte de la Unidad de Inmunodeficiencias Pediátricas. Sin tratamiento activo. Profilaxis frente a *Pneumocystis*

*jirovecii* con trimetoprim-sulfametoxazol con cumplimiento inconstante.

- Anemia hemolítica autoinmune por autoanticuerpos calientes secundaria a lo anterior, diagnosticada en octubre de 2011. Debut con anemia grave hasta hemoglobina 3,4 g/dl que requirió ingreso en UCI. Test de antiglobulina directa poli y monoespecífico fuertemente positivo para IgG y C3d. Múltiples brotes posteriores, varios de ellos con requerimientos transfusionales, e incluso un nuevo ingreso en UCI (hemoglobina 2,3 g/dl). Manejados en líneas generales con corticoterapia sistémica a 1,5-2 mg/kg/día, inmunoglobulinas intravenosas a 1 g/kg/día y, dos ciclos de rituximab (4 dosis semanales), en marzo de 2018 y junio de 2021). Cifras de hemoglobina intercrisis en rango normal. Nulo cumplimiento del tratamiento de mantenimiento instaurado, con micofenolato de mofetilo (500-1.000 mg cada 12 horas) y prednisona oral (mínima dosis efectiva), con graves problemas de adherencia terapéutica.

### 2.3 Antecedentes familiares:

El paciente no presenta antecedentes familiares de hemopatías.

### 2.4 Enfermedad actual:

Acude al servicio de Urgencias por presentar cuadro de deterioro progresivo del estado general con astenia creciente desde hace aproximadamente un mes y medio, que se acompaña desde hace 7-10 días de ictericia mucocutánea y coluria y, en los últimos días, de malestar general, disnea progresiva hasta hacerse de mínimos esfuerzos, tos productiva con expectoración transparente y fiebre vespertina hasta 37,2°C. En las últimas horas cuenta sensación nauseosa y un episodio de vómitos de carácter alimentario.

Niega palpitaciones o dolor torácico. Niega mareos o episodios sincopales. Niega dolor abdominal, diarrea o presencia de productos patológicos en las heces. Niega presencia de síndrome miccional. Niega transfusiones recientes de hemoderivados. Niega transgresiones en su dieta habitual. Niega uso de nuevos fármacos en los últimos meses.

### 2.5 Exploración física:

A su llegada a urgencias el paciente impresiona de aceptable estado general. Se encuentra estable hemodinámicamente, y eupneico en reposo. Febrícula. Se

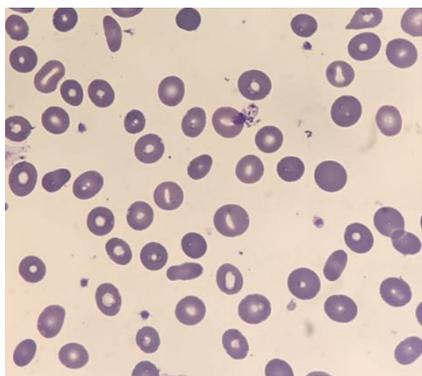
muestra consciente y orientado en persona, tiempo y espacio. Bien hidratado, relleno capilar normal, palidez e ictericia mucocutánea difusa.

- Contantes: temperatura 37,2°C (con posterior pico febril hasta 38,8°C), tensión arterial 113/62 mmHg, frecuencia cardíaca 130 lpm, saturación de O<sub>2</sub> basal 100%.
- Exploración torácica: a la inspección, petequias difusas; a la auscultación, taquicárdico, rítmico, soplo sistólico eyectivo en foco aórtico de origen probablemente funcional, y murmullo vesicular conservado sin ruidos agregados.
- Exploración abdominal: ruidos hidroaéreos conservados de timbre normal, abdomen blando y depresible, no doloroso a la palpación superficial ni profunda, sin signos de irritación peritoneal, no se palpan masas ni megalias.
- Miembros inferiores: sin edemas ni signos sugestivos de trombosis venosa profunda.

### 3. INFORME DEL LABORATORIO

En el análisis de sangre de Urgencias el hemograma muestra hemoglobina 3,4 g/dl, hematocrito 11%, 880.000 hematíes/ $\mu$ l, con volumen corpuscular medio 124,9 fl y hemoglobina corpuscular media 39,2 pg, 97.000 reticulocitos/microl, 92.000 plaquetas/ $\mu$ l, 2000 leucocitos/ $\mu$ l con 1.500 neutrófilos/ $\mu$ l y 300 linfocitos/ $\mu$ l; la bioquímica objetiva bilirrubina total 4,3 mg/dl, lactato deshidrogenasa (LDH) 598 U/l y haptoglobina indetectable.

Se realiza un frotis de sangre periférica que demuestra la presencia de esferocitos en ausencia de esquistocitos (Figura 1).



**Figura 1.** Frotis de sangre periférica con presencia de esferocitos.

Ante una cifra inicial de hemoglobina 3,4 g/dl con repercusión clínica se plantea la posibilidad de transfundir al paciente, por lo que se solicita a Banco de Sangre la realización de pruebas pretransfusionales con determinación de grupo sanguíneo ABO, RhD y escrutinio de anticuerpos irregulares, con resultado de grupo 0, RhD+, escrutinio positivo de fuerte intensidad (3+) (incluyendo autocontrol positivo 4+), y panel ampliado de prueba de

antiglobulina indirecta (Coombs indirecto) positivo 11/11 ("panaglutinina"). Asimismo se objetiva intensa aglutinación (4+) en la prueba de antiglobulina directa (Coombs directo) poliespecífica y con especificidad para IgG y fracción C3d además de IgM y otras fracciones del complemento (Figuras 2 y 3).

Al ingreso en la planta de hospitalización el análisis de sangre muestra mejoría de la cifra de hemoglobina hasta 4,3 g/dl tras la transfusión de un concentrado de hematíes (CH), trombopenia de 97.000/ $\mu$ l, leucopenia de 2.200/ $\mu$ l con linfopenia de 200/ $\mu$ l, LDH de 537 U/l, bilirrubina total de 3,1 mg/dl y haptoglobina indetectable.

### 4. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

Los resultados obtenidos en el resto de pruebas complementarias solicitadas (diagnóstico por imagen y microbiología) quedan reflejados en la Tabla 1.

### 5. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

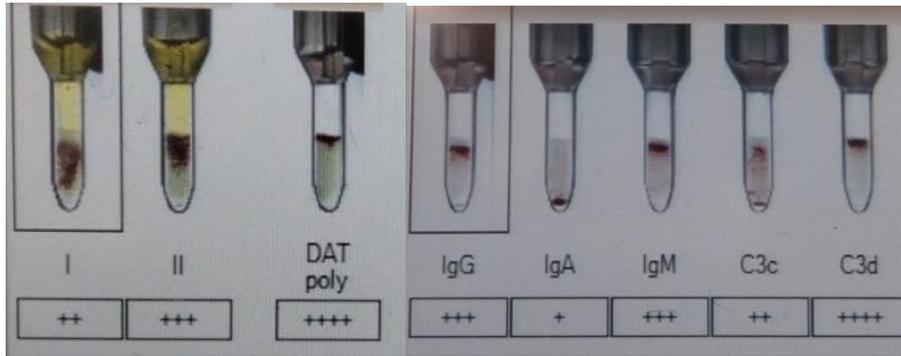
Si observamos los resultados de pruebas de laboratorio obtenidos, y considerando los antecedentes personales referidos anteriormente, podemos concluir con alta probabilidad el diagnóstico de un nuevo brote de anemia hemolítica autoinmune por anticuerpos calientes.

Nos encontramos ante una anemia macrocítica hiperocrómica regenerativa con claros datos de hemólisis (elevación de LDH y bilirrubina total, haptoglobina indetectable). La presencia de esferocitos en el frotis de sangre periférica apoya el diagnóstico. Ante la sospecha clínica, se realiza una prueba de antiglobulina directa poliespecífica cuyo resultado de aglutinación intensa (4+) confirma la existencia de anticuerpos fijados a la superficie del hematíe del paciente. Posteriormente se llevan a cabo las pruebas de antiglobulina directa mono-específicas para filiar el isotipo de inmunoglobulina +/- fracción del complemento fijado a los eritrocitos. En nuestro caso se obtiene aglutinación intensa frente a IgG y C3d (4+). Si bien este patrón de positividad no es exclusivo de la anemia hemolítica autoinmune por anticuerpos calientes, el diagnóstico previo, la existencia de una etiología ya conocida y la ausencia de empleo reciente de fármacos, hacen altamente probable el diagnóstico.

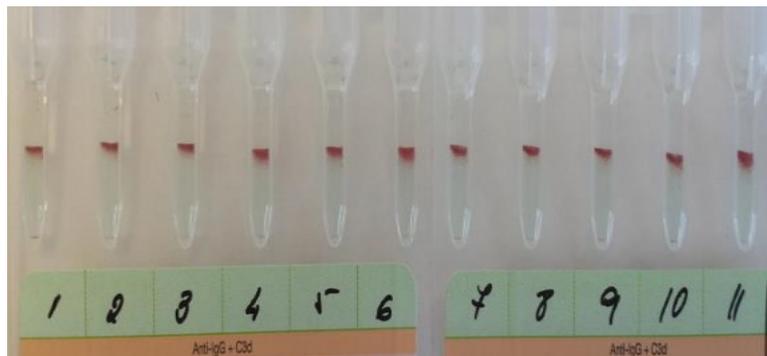
### 6. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

En el estudio inicial de una anemia es importante tener en cuenta si el origen de la misma es central (es decir, arregenerativa) o periférica (regenerativa); para realizar esta clasificación, se emplea el recuento de reticulocitos, que son los precursores inmediatos de los eritrocitos. Valoramos tanto el recuento absoluto como el índice de producción de reticulocitaria (IPR).

$$IPR = \frac{\text{Reticulocitos}(\%) \times (\text{Hematocrito real}/45)}{1 + [(45 - \text{Hematocrito real}) \times 0,05]}$$



**Figura 2.** De izquierda a derecha: Escrutinio de anticuerpos irregulares (célula I 2+, célula II 3+), Coombs directo poliespecífico (4+) y Coombs directo mono-específico (IgG3+, IgM 3+, C3d 4+).



**Figura 3.** Panel ampliado de 11 células (4+).

Prueba	Muestra	Resultado
Radiografía simple de tórax	-	Sin hallazgos patológicos
Cultivo de bacterias	Sangre	Estéril
	Espuito	Flora saprófita habitual
	Orina	Estéril
PCR virus respiratorios	Secreción nasofaríngea	Negativa para Influenza A y B, virus respiratorio sincitial y SARS-CoV2.
Serología virus hepatitis B	Sangre	Antígeno HBs: positivo. Anti-HBc: positivo. Anti-HBc IgM: negativo. Antígeno HBe: negativo. Anti-HBe: positivo. Anti-HBs: negativo. Carga viral: no se detecta (límite de detección 10 UI/mL).

**Tabla 1.** Resultados de pruebas complementarias de diagnóstico por imagen y microbiología solicitadas. PCR: reacción en cadena de la polimerasa. Elaboración propia.

En caso de IPR <1 o reticulocitos <50 x10<sup>9</sup>/l hablamos de anemia hiporregenerativa; en caso de IPR >2 o reticulocitos >125 x10<sup>9</sup>/l hablamos de anemia regenerativa. Dentro de las anemias periféricas (regenerativas), las causas posibles son dos: hemorragia aguda y hemólisis.

La anemia hemolítica también se divide según el mecanismo de producción corpuscular o extracorpúscular (tabla 2).

tratamiento.

El paciente presenta hallazgos semiológicos y analíticos preliminares compatibles con un brote grave de anemia hemolítica con trombopenia asociada, sin exteriorización de sangrado, con preservación de la estabilidad hemodinámica, en el contexto agudo de una infección respiratoria febril de vías altas de etiología a filiar y sin desarrollo de insuficiencia respiratoria.

Anemias hemolíticas corpusculares por:	Anemias hemolíticas extracorpúsculares por:
1. Alteración de la membrana a) Con alteración de la forma normal: esferocitosis hereditaria y otras. b) Por hipersensibilidad al complemento: hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN). 2. Déficits enzimáticos: enzimas eritrocitarios (G6PDH, PK y otras), porfirias. 3. Alteraciones en la hemoglobina a) Alteraciones cualitativas o hemoglobinopatías estructurales: síndromes falciformes (Hb S, formas homo y heterocigotas, asociaciones), hemoglobinas inestables (Zurich, Köln, otras), hemoglobinas con afinidad alterada por el oxígeno, metahemoglobinemias congénitas hemoglobinopatías que se expresan como talasemias (Hb Lepore, Constant Spring y otras). b) Alteraciones cuantitativas o síndromes talasémicos: talasemia beta, alfa y otras, hemoglobinopatías expresadas como talasemias persistencia hereditaria de Hb fetal.	1. Agentes tóxicos: hidrógeno arseniado, cloratos, etc. (químicos), venenos de serpientes (animales). 2. Agentes infecciosos: bacterianos ( <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> tipo b y otros), parásitos (paludismo, bartonelosis, babesiosis). 3. Causas mecánicas: valvulopatías cardíacas y prótesis valvulares y vasculares, microangiopatías (PTT/SHU, CID, síndrome HELLP, vasculitis, hipertensión maligna, SAF catastrófico y otras...) 4. Causas inmunes: isoanticuerpos (aloinmune), transfusionales, enfermedad hemolítica del recién nacido, autoanticuerpos (autoinmune: por anticuerpos calientes, por anticuerpos fríos, hemoglobinuria paroxística a frígore), fármacos (por inducción de autoanticuerpo, por adsorción, por inmunocomplejos). 5. Por hiperesplenismo

**Tabla 2.** Causas de anemia hemolítica. G6PDH: glucosa-6-fostato deshidrogenasa; PK: piruvato quinasa; Hb: hemoglobina; PTT: púrpura trombótica trombocitopénica; SHU: síndrome hemolítico urémico; CID: coagulación intravascular diseminada. SAF: síndrome antifosfolípido. Modificado de Hernández-García MT, Lakhwani S.

En este caso y, teniendo en cuenta los antecedentes del paciente, todo apuntaba desde el principio a un nuevo brote de anemia hemolítica autoinmune por anticuerpos calientes (anemia macrocítica regenerativa con frotis de sangre periférica compatible y aumento de parámetros de hemólisis con elevación de bilirrubina y LDH, así como Coombs directo positivo para IgG y C3d).

## 7. EVOLUCIÓN

Durante su estancia en urgencias presentó un pico febril de 38,8°C, con buenas saturaciones basales y manteniéndose estable hemodinámicamente en todo momento. Se solicitó análisis de sangre urgente que objetiva anemia macrocítica hiperocrómica grave con hemoglobina de 3,4 g/dl, trombopenia de 92.000/μl, leucopenia de 2.000/μl a expensas de linfopenia de 300/μl, reticulocitosis de 97.000/μl, LDH 598 U/l y bilirrubina total de 4,3 mg/dl con haptoglobina indetectable. Se realizó radiografía de tórax sin alteraciones. Se extrajeron muestras para hemocultivos de venopunción, urocultivo, cultivo de esputo, PCR de virus respiratorios y estudio serológico del virus de la hepatitis B. Se solicitaron pruebas cruzadas, y se cursó ingreso a cargo del Servicio de Hematología y Hemoterapia para vigilancia y

Al ingreso, y al tratarse de otro brote de AHAI en relación con su inmunodeficiencia de base, se inició corticoterapia sistémica con metilprednisolona (luego prednisona) a 1,5 mg/kg/24h; además, el paciente precisó la transfusión de 1 CH por la alarmante cifra de hemoglobina que presentaba, aunque no tuvo datos de insuficiencia cardíaca o insuficiencia respiratoria en ningún momento. Asimismo, se administraron inmunoglobulinas a 0,4 g/kg/día durante 5 días. Ante la ausencia de mejoría en los primeros días de tratamiento, se inicia pauta de rituximab 375 mg/m<sup>2</sup> semanal (un total de 4 dosis), y micofenolato de mofetilo 1.000 mg cada 8 horas, con vigilancia activa de posible reactivación de virus de hepatitis B. Tras una semana con cifras de hemoglobina en torno a 4-5 g/dl, comenzaron a bajar los parámetros de hemólisis (LDH, bilirrubina) y a subir lentamente la cifra de hemoglobina. Tras 15 días de ingreso el paciente recibió el alta a domicilio.

Se interconsultó en el ingreso con Pediatría (Sección de Inmunodeficiencias) para valorar la posibilidad de un tratamiento dirigido a la enfermedad de base. Lo más efectivo, a pesar de los riesgos, sería un trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos pero, dado el mal cumplimiento terapéutico del paciente y la aceptable respuesta al tratamiento, por el momento se decide

mantener una actitud expectante.

En el primer control ambulatorio tras el ingreso, destacaba una franca mejoría de los parámetros de hemólisis y una subida de hemoglobina hasta 9,4 g/dl.

## 8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

La AHAI por anticuerpos calientes es la más frecuente de las anemias hemolíticas autoinmunes. En más del 95% de casos se debe a anticuerpos de clase IgG activos a la temperatura corporal normal y unidos a múltiples antígenos eritrocitarios propios, especialmente el complejo Rh y el espectro de las glicoforinas. Ello conduce a una hemólisis de predominio extravascular por parte de células del sistema retículo-endotelial, especialmente a nivel esplénico. Los macrófagos con receptores FcγRIII reconocen la cadena pesada de la IgG y fagocitan parcialmente al hematíe dando lugar a esferocitos que, quedando muchas veces atrapados en los sinusoides esplénicos por su menor flexibilidad, terminan siendo destruidos por completo.

Adicionalmente, en un 30% de los casos estos autoanticuerpos de clase IgG son capaces de fijar la fracción C3b del complemento, especialmente las subclases IgG1 e IgG3, dando lugar a un componente añadido de hemólisis extravascular a cargo de las células de Kupffer hepáticas portadoras de receptores C3b. No obstante, en cierto número de eritrocitos, C3b es inactivado a C3d, modificación que previene de la destrucción por fagocitos y genera una subpoblación de esferocitos opsonizados de mayor durabilidad.

Desde un punto de vista etiológico, aproximadamente el 45% de las AHAI por anticuerpos calientes son primarias (de carácter idiopático), siendo el 55% restante secundarias a distintos procesos subyacentes: (1) procesos linfoproliferativos como la leucemia linfática crónica; (2) trastornos inmunitarios como inmunodeficiencias primarias (especialmente la común variable); (3) enfermedades autoinmunes (lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide o colitis ulcerosa), (4) infecciones como las víricas (VIH, Virus de Epstein Barr, VHC o, más recientemente, SARS-CoV2), o babesiosis en el paciente asplénico; o (5) farmacológica (penicilina, cefalosporinas, alfa-metil-dopa en gestantes, etc...).

La forma de presentación es muy variable, pudiendo ir desde el estado asintomático hasta distintos grados de severidad clínica. Es habitual la presencia de síndrome anémico de intensidad variable en función del grado y la velocidad de la anemización, así como de la situación basal y las comorbilidades del paciente. Aproximadamente un tercio de los casos presentan semiología específica de hemólisis, con ictericia, coluria, colelitiasis o esplenomegalia moderada.

Hay un 5% de casos producidos por autoanticuerpos calientes de clase IgA o, más excepcionalmente, IgM, que se caracterizan por una mayor complejidad diagnóstica al presentar un resultado negativo en el test de Coombs directo poliespecífico, sólo detectable en el mono-específico

## 8.1 Pruebas de laboratorio:

Los anticuerpos antieritrocitarios pueden ser autoanticuerpos (cuando se unen a antígenos eritrocitarios propios) o aloanticuerpos. Estos anticuerpos no existen de forma natural sino que se producen al entrar en contacto con antígenos extraños, como en el caso de una gestante RHD (-) con un feto RhD (+) o un paciente D- transfundido con CH RhD (+). Una vez formados se mantienen en el tiempo y muchos de ellos, pueden generar fenómenos hemolíticos severos si vuelven a contactar con el antígeno.

Una AHAI supone un desafío para el Banco de Sangre por no poder resolver una petición transfusional de forma rápida debido a una prueba cruzada incompatible con cualquier CH (si no se trata el plasma del paciente) y por la dificultad de detectar los posibles aloanticuerpos enmascarados por el típico comportamiento de panaglutinina fuerte del autoanticuerpo.

En una solicitud de transfusión las pruebas pretransfusionales básicas son: el tipaje ABO y RhD, junto con tests de detección de anticuerpos irregulares ("escrutinio y, si precisa, identificación"), para detectar y, posteriormente, identificar un anticuerpo que pudiera reaccionar frente a los hematíes transfundidos y causar hemólisis clínicamente significativa que anule el efecto terapéutico transfusional y agrave las consecuencias clínicas de la hemólisis ya presente. Si encontramos un anticuerpo que reacciona frente a todas las células, aglutinando con todos los hematíes y también con los del paciente (autocontrol positivo), hablamos de un comportamiento de panaglutinina. Se debe sospechar la presencia de autoanticuerpo(s) y realizar un test de Coombs directo.

En segundo lugar, el test directo de antiglobulina es la herramienta clave para el diagnóstico de la AHAI. Se realiza, en primer lugar, usando una antiglobulina poliespecífica, que reconoce IgG y C3d. Si este es positivo de más de 2+, se debe realizar el test de antiglobulinas mono-específicas para distinguir entre IgG, C3d, IgM e IgA. Un Coombs mono-específico que sólo es positivo para C3d suele ser debido a un autoanticuerpo frío (típicamente con mayor actividad a 4°C) que ha adquirido mayor amplitud de su rango térmico hasta incluso producir hemólisis significativa. Si se confirma un Coombs directo positivo fuerte (generalmente 3-4+) y el resto de parámetros analíticos apoyan, estamos probablemente ante una AHAI. La presencia de un autoanticuerpo libre en el plasma es resultado de que todos los sitios de unión de los hematíes (antígenos) están ocupados por anticuerpos (auto +/- aloanticuerpos). Es fundamental recordar que un Coombs directo positivo aislado no es específico de hemólisis autoinmune y se puede dar en múltiples escenarios (interferencia de fármacos, enfermedades autoinmunes...) sin implicar hemólisis activa propiamente dicha.

En tercer lugar se deben realizar adsorciones, que consisten en el empleo de hematíes para secuestrar el autoanticuerpo (anulando el efecto niebla) y dejar a la vista el(los) aloanticuerpo(s). Igualmente, tenemos la posibilidad de obtener el fenotipo del paciente (si no ha sido transfundido recientemente) y saber qué antígenos hay que respetar a la hora de transfundir, para intentar evitar tanto la hemólisis como la mayor producción de autoanticuerpos.

## 8.2 Otras pruebas complementarias:

Una vez tenemos el diagnóstico, es imprescindible estudiar la etiología del cuadro y descartar procesos de potencial gravedad.

Más allá de la semiología clínica, el estudio inicial puede incluir la realización de una tomografía computarizada de cuerpo completo (descartar especialmente causa neo y paraneoplásica). Se deben solicitar serologías IgM e IgG virales y bacterianas disponibles (*Mycoplasma pneumoniae*), también electroforesis e inmunofijación del suero (infecciones y gammopatías monoclonales), además de cuantificación de inmunoglobulinas y estudio de poblaciones linfocitarias (despistaje de inmunodeficiencias y gammopatías), así como determinación del factor reumatoide y panel de anticuerpos no organoespecíficos (estudio de procesos linfoproliferativos, inmunodeficiencias o enfermedades autoinmunes).

Técnicas diagnósticas como la citometría de flujo en muestra de sangre periférica o el aspirado/biopsia de médula ósea pueden estar indicados en presencia de datos sugestivos de síndrome linfoproliferativo subyacente (adenopatías, otras citopenias, hallazgos compatibles en pruebas de imagen).

## 8.3 Tratamiento inicial (Figura 4):

Se debería tratar a los pacientes con AHAI con el objetivo de mantener niveles de hemoglobina por encima de 10 g/dl y disminuir los parámetros analíticos de hemólisis. El tratamiento de primera línea son los corticoides (pauta inicial de 1-2 mg/kg/día 2-4 semanas, con posterior pauta descendente (aunque no siempre es posible si no hay buena respuesta o si aparece corticodependencia) y el tratamiento de la enfermedad de base (si ésta se identifica).

consecuencias graves derivadas de la anemia. En caso de necesidad de transfusión urgente, se debe transfundir concentrados de hematíes a pesar de que el estudio pretransfusional no esté concluido, administrando los hematíes más compatibles posibles con la información disponible en ese momento. Es muy importante, por parte de Banco de Sangre, una buena comunicación con el clínico para conocer el estado general del paciente y, siempre que sea posible, tener hematíes cruzados y preparados para transfundir.

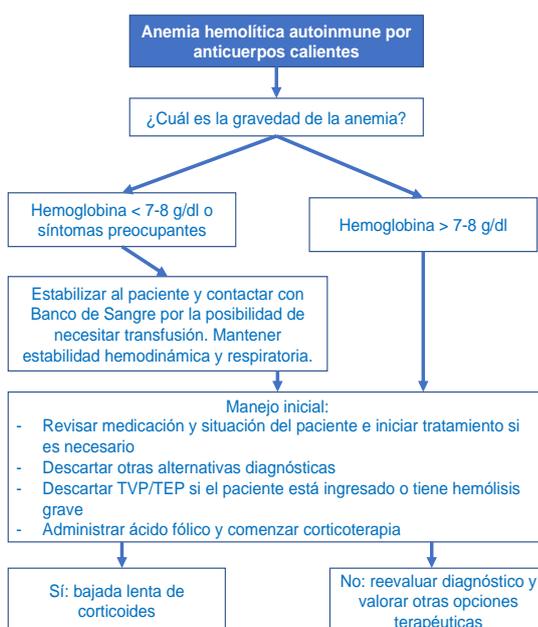
Se debe realizar además tratamiento de soporte con ácido fólico en todos los pacientes, así como calcio, protector gástrico y profilaxis frente a *Pneumocystis jirovecii* con trimetoprim/sulfametoxazol en caso de corticoterapia prolongada y/o a altas dosis.

## 8.4 Tratamientos de segunda línea:

El rituximab (anticuerpo monoclonal anti-CD20) es el tratamiento más utilizado como tratamiento de 2ª línea, habitualmente 375 mg/m<sup>2</sup> semanal con 4 dosis. La esplenectomía es cada vez menos empleada por la aparición de nuevos tratamientos menos invasivos, pero puede tener su papel en gente joven refractaria a otros tratamientos aunque aumenta el riesgo de infecciones por microorganismos encapsulados. Otros tratamientos utilizados son las inmunoglobulinas intravenosas, aunque sin estudios randomizados, y otros inmunosupresores (micofenolato de mofetilo, ciclofosfamida o azatioprina) en casos refractarios o con intolerancia a los esteroides.

## 8.5 Novedades en el tratamiento:

Se han empleado otros fármacos como bortezomib (inhibidor del proteasoma), daratumumab (anti-CD38) o fármacos que bloquean el receptor neonatal para Fc (FcRn) para reducir la vida media de los autoanticuerpos, con



**Figura 4.** Manejo inicial de anemia hemolítica autoinmune por anticuerpos calientes (Modificado de Brugnara C, Brodsky RA).

Se debe mantener una estrategia transfusional restrictiva en pacientes sin inestabilidad hemodinámica ni otras

resultados prometedores en algún caso.

**BIBLIOGRAFÍA GENERAL**

- Kuter DJ. Warm autoimmune hemolytic anemia and the best treatment strategies. *Hematology*. 2022;2022(1):105-13.
- Johnson ST, Puca KE. Evaluating patients with autoimmune hemolytic anemia in the transfusion service and immunohematology reference laboratory: pretransfusion testing challenges and best transfusion-management strategies. *Hematology*. 2022;2022(1):96-104.
- Hernández-García MT, Lakhwani S. Anemia: generalidades. 1.<sup>a</sup> ed. 2022. *Manual Práctico de Hematología 2022*.
- Brugnara C, Brodsky RA. Warm autoimmune hemolytic anemia (AIHA) in adults. *UpToDate*. 2022.
- Charles H. Packman. Chapter 54: Hemolytic anemia resulting from immune injury. En: Kaushansky Kenneth, Lichtman Marshall, Prchal Josef, Levi Marcel, Burns Linda, Linch David C. *Williams Hematology*. 10<sup>a</sup> ed. Nueva York: McGraw-Hill; 2016. p821-4.

## 22 - ANEMIA Y TROMBOPENIA: NO TAN TRIVIAL COMO PARECE

**Autor:** Rafael Colmenares Gil\*, Rodrigo Gil Manso\*.

\*Ambos autores han colaborado de forma equitativa en la redacción del texto.

**Revisora:** Sandra Gómez Rojas.

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

**Palabras clave:** Anemia, Trombocitopenia, Biología Molecular.

### 1. INTRODUCCIÓN

La anemia es una alteración analítica muy frecuente y que puede tener diferentes etiologías, siendo las más frecuentes a nivel mundial la anemia relacionada con la inflamación (o de trastornos crónicos) y la anemia por déficit de hierro.

La anemia de trastornos crónicos puede estar causada por prácticamente cualquier proceso inflamatorio o infección en el organismo. El reconocimiento inicial de esos agentes que dañan el organismo es mediado por sensores moleculares en las membranas de las distintas células del sistema inmune, inicialmente del sistema inmune innato, que al contactar con patrones moleculares específicos, se activan dando lugar a la inflamación que, por tanto, puede ser consecuencia tanto de un microorganismo como de una disregulación inmune. Esta disregulación puede estar causada por una enfermedad autoinmune o maligna (por ejemplo, enfermedades reumatológicas, enfermedad inflamatoria intestinal o procesos linfoproliferativos, entre otros). La actividad de distintas citoquinas (interleuquina-1 (IL-1), IL-6, factor de necrosis tumoral-alfa, interferón-gamma) alteran la eritropoyesis y disminuyen la vida media de los hematíes. Además, producen cambios en la homeostasis del hierro, con restricción de su utilización por la interacción de los niveles elevados de hepcidina con la ferroportina.

En un paciente con anemia y enfermedad sistémica autoinmune, una vez descartada la etiología hemolítica autoinmune, la primera sospecha será la de una anemia de trastorno crónico. No obstante, es fundamental realizar un estudio sistemático de la anemia del paciente. Inicialmente se deben descartar causas carenciales (hierro, ácido fólico, vitamina B12) y otras hipótesis plausibles (toxicidad en relación a los inmunosupresores o las terapias dirigidas) siempre teniendo presente las características de la anemia (regenerativa o arregenerativa, con parámetros de hemólisis alterados, etc.); y en casos seleccionados realizar estudios de médula ósea. Cuando todo lo demás no cuadre, la perspicacia del clínico nos puede llevar a diagnósticos inesperados.

### 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

#### 2.1 Motivo de consulta:

Varón de 74 años que presenta astenia, malestar general y múltiples fenómenos inflamatorios.

#### 2.2 Antecedentes personales:

Entre los antecedentes personales, destacan:

- Hipertensión arterial en tratamiento y miocardiopatía hipertensiva.
- Dislipemia (hipercolesterolemia) en tratamiento.

#### 2.3 Antecedentes familiares:

El paciente no presenta antecedentes familiares de interés.

#### 2.4 Resumen de la enfermedad actual e historia reciente:

Varón de 74 años valorado en consulta de Reumatología por presentar lesiones cutáneas induradas sugestivas de paniculitis evanescente (probable eritema nodoso), así como un posible episodio de uveítis, artralgias inflamatorias, posible inflamación a nivel orofaríngea, elevación de reactantes de fase aguda y parestesias en miembros inferiores. Ante este cuadro clínico se decide iniciar tratamiento con corticoides, con excelente respuesta clínica. Se realiza PET/TC que muestra al menos tres depósitos focales de la captación. Uno en tronco braquiocefálico derecho y otros dos en arteria subclavia derecha, con un metabolismo superior al pool hepático, que, si bien pudieran estar en relación con vasculitis, el estudio está artefactado por el inicio del tratamiento esteroideo, por lo que la valoración de los mismos está limitada.

Un mes más tarde presenta un cuadro compatible con eccema asteatósico (y posiblemente irritativo), así como lesiones de pustulosis, sin otra sintomatología, por lo que se sospecha síndrome de Behçet y se decide añadir al tratamiento azatioprina. Se repite PET/TC, en el que persiste cierta actividad vasculítica, y en el que se describe un incremento difuso de la actividad metabólica en médula ósea hematopoyética de esqueleto axial y apendicular proximal que podría estar en relación con discrasia sanguínea como primera posibilidad. Dado que persiste el malestar general, se decide suspender azatioprina e iniciar metotrexato.

Siete meses más tarde vuelve a ingresar por herpes zóster metamérico, pero destacando en su analítica el desarrollo de una marcada anemia arregenerativa (hemoglobina (Hb) 8.3 g/dl, volumen corpuscular medio (VCM) 120 fL), así como leve trombocitopenia (127.000 plaquetas/mm<sup>3</sup>) y linfopenia (700 linfocitos/mm<sup>3</sup>).

Se decide iniciar tratamiento con adalimumab y es derivado a Consultas de Hematología para valoración de las citopenias; con estudio de sangre periférica (presencia de Dacriocitos y neutrófilos hiposegmentados) achacado

inicialmente al cuadro inflamatorio sistémico y a la toxicidad de los tratamientos.

El paciente acude a Urgencias 10 días después de iniciar adalimumab por presentar lesiones cutáneas generalizadas tipo vesiculosas de 48 horas de evolución, así como tiritona y empeoramiento de astenia y disnea, por lo que ingresa para descartar síndrome de DRESS vs herpes zóster diseminado.

### 2.5 Exploración física:

A su llegada a Urgencias el paciente muestra un regular estado general, consciente, orientado, alerta, eupneico en reposo, bien nutrido e hidratado, con lesiones vesiculosas generalizadas, en tronco, brazos, región cervical y cuero cabelludo, que se extienden hasta las ingles, sin más afectación en miembros inferiores. No presenta adenopatías, masas ni visceromegalias.

La medición de las constantes arrojó los siguientes resultados:

- Febrícula de 37,2°C.
- Tensión arterial: 110/74 mmHg.
- Frecuencia cardíaca 93 latidos/min.
- Saturación O2 basal 98 %.

### 3. INFORME DEL LABORATORIO

En Urgencias se realiza una analítica en la que presenta mejoría de la anemia previa (11.5 g/dl de Hb, con VCM 109.8 fL) persistencia de la linfopenia (400/mm<sup>3</sup>) y empeoramiento de trombocitopenia (79.000/mm<sup>3</sup>), con importante aumento de proteína C reactiva (PCR) (26,03 mg/dL), con leve coagulopatía con actividad de protrombina de 70%.

La función renal, el perfil hepático, los iones, el calcio, el fósforo y el magnesio se encuentran en rango.

En la analítica durante el ingreso se objetiva un empeoramiento de la anemia (9,9 g/dL), con profundización de trombocitopenia (hasta 50.000/mm<sup>3</sup>) y persistencia de la linfopenia, con elevación de PCR hasta 45,38 mg/dL y elevación de lactato deshidrogenasa (LDH) hasta 489 U/L.

Tras la valoración en conjunto por Reumatología, Dermatología y Hematología se llega a un diagnóstico de sospecha, por lo que se realiza biopsia cutánea y biopsia de médula ósea.

### 4. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

#### 4.1 Biopsia cutánea:

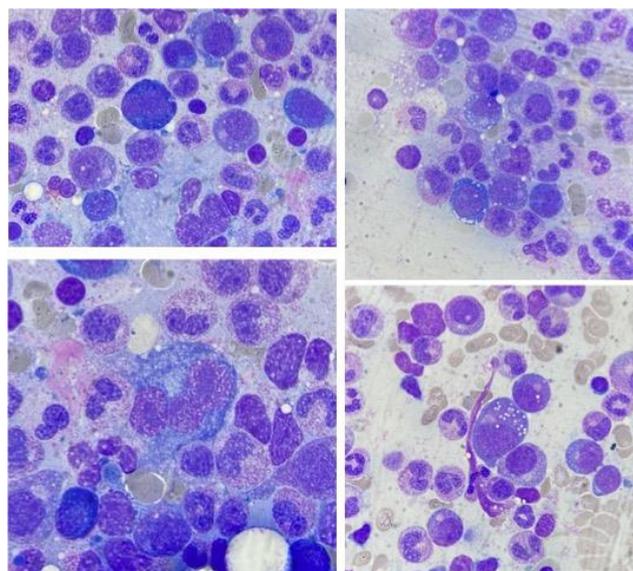
Se observa un denso infiltrado de polimorfonucleares neutrófilos alrededor de los vasos con afectación de la pared de los mismos, focos de necrosis, extravasación hemática y abundante leucocitoclasia. Esta misma lesión se observa también en el panículo adiposo donde se observa un foco de paniculitis lobulillar con necrosis de adipocitos.

-Diagnóstico histopatológico: Piel de brazo derecho con vasculitis leucocitoclástica de vaso fino asociado a paniculitis lobulillar.

#### 4.2 Biopsia de médula ósea:

- Citología (Figura 1): Médula ósea hiper celular para la edad del paciente, con disminución de la grasa. Megacariocitos disminuidos en proporción, pero con adecuada morfología. Serie granulocítica hiperplásica, desviada a la izquierda, aunque madurando hasta estadios finales, con incremento de granulación. Se observa vacuolización en algunos precursores mieloides. Serie eritroide disminuida en consonancia, de predominio poliortocromático. En los estadios tempranos (proeritroblastos y eritroblastos basófilos) presenta elementos con vacuolización citoplasmática y rasgos displásicos con binucleación. Blastos 1%.

- Citometría de flujo: Médula ósea hiper celular, con predominio de serie granulocítica, con marcada desviación



**Figura 1.** Aspirado de médula ósea. Se observa desviación izquierda y, en los estadios tempranos de serie roja (proeritroblastos y eritroblastos basófilos), elementos vacuolados y displásicos con binucleación. Elaboración propia.

izquierda. La serie eritroide está disminuida y también con predominio de proeritroblastos, con escasas formas maduras. Muestra de médula ósea con abundante celularidad, y desviación izquierda en todas las series, podría ser compatible con toxicidad por fármacos previos.

- Citogenética: cariotipo 46, XY.

- Anatomía Patológica: cilindro de médula ósea con 9 espacios intertrabeculares y una celularidad del 55%. Las tres series hematopoyéticas se encuentran representadas. Los precursores granulocíticos son muy numerosos y alcanzan formas segmentadas. Los precursores eritroides son escasos, se encuentran desviados a la izquierda y forman aisladas colonias. No son llamativas las vacuolas intracitoplásmicas en los precursores. Los megacariocitos son normales en número y muestran un espectro morfológico. Se identifican linfocitos y células plasmáticas de aspecto maduro dispersos por el intersticio medular. La

técnica de plata no muestra fibrosis reticulínica (grado 0/3). Estudio inmunohistoquímico: Mieloperoxidasa y CD15 marcan los numerosos precursores granulocíticos y CD71 los aislados precursores eritroides. La relación mieloide-eritroide es de 6:1. El factor VIII pone de manifiesto los megacariocitos. No se observa incremento de blastos con CD34. No se observan imágenes de hemofagocitosis con PGM1.

## 5. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Desde el punto de vista de Hematología nos encontramos ante un paciente que tiene distintas alteraciones en el hemograma: por un lado, una anemia macrocítica hiporregenerativa, además de una trombocitopenia y una linfopenia. Además de distintos procesos inflamatorios.

Como posibles etiologías a descartar en este paciente:

- Toxicidad farmacológica: azatioprina, metotrexato y adalimumab son fármacos que pueden producir anemia, trombopenia y neutropenia (pancitopenia), así como linfopenia.

- Anemia de trastornos crónicos: es un paciente con una patología autoinmune de base aparentemente, por lo que podría estar justificado. No obstante, suele ser normocítica y no se suele acompañar de trombocitopenia.

- Síndrome mielodisplásico: aunque el paciente no tenía significativos rasgos displásicos en sangre periférica, la anemia macrocítica y la trombopenia podrían apoyar este diagnóstico.

- Anemia megaloblástica, que quedó descartada por presentar desde un inicio vitamina B12 y ácido fólico en rango normal.

- Alcoholismo/insuficiencia hepática: la anemia macrocítica y la trombocitopenia podrían apoyar el diagnóstico, pero el paciente no tenía otras alteraciones que lo justificaran (alteración del perfil hepático, hiperbilirrubinemia, coagulopatía relevante).

- Otros diagnósticos de síndromes recientemente descritos (ver diagnóstico definitivo).

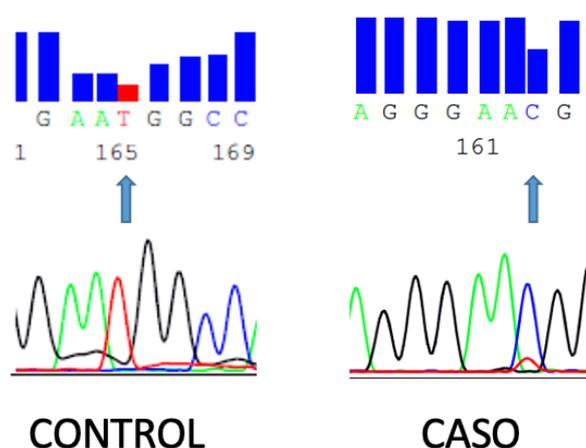
## 6. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Solamente a través del trabajo multidisciplinar de los equipos de Reumatología, Dermatología y Hematología se estableció la sospecha de un síndrome autoinflamatorio, el síndrome VEXAS (Vacuolas, Enzima E1, ligado al X, Autoinflamatorio, Somático) descrito por primera vez en 2020. Se trata de una enfermedad de carácter somático, aparece en varones de edad en torno a 60 años y caracterizada por la aparición de lesiones dermatológicas, un cuadro autoinflamatorio y presencia de citopenias (fundamentalmente anemia y trombopenia) frecuentemente asociadas a rasgos displásicos y un elemento característico, que se presenta en todos los casos que es la vacuolización citoplasmática de progenitores eritroides y mieloides, como ocurre en nuestro caso. El síndrome VEXAS es debido a mutaciones de carácter somático (adquiridas) en el gen UBA1 (presente en el cromosoma X,

por ello es casi exclusiva de varones), que codifica para la enzima E1, principal responsable de regular la ubiquitinización y degradación proteica y la homeostasis celular.

La mayor parte de los casos son debidos a cambios en el aminoácido 41 (metionina), habiéndose detectado fundamentalmente tres mutaciones puntuales: c.122 T>C (p.Met41Thr), c.121A>G (p.Met41Val) y c.121A>C (p.Met41Leu), con frecuencias de variante alélica (VAF) superiores al 80%. Para llevar a cabo la confirmación diagnóstica en nuestro caso, se procedió al estudio molecular del DNA del estudio de médula ósea. Mediante secuenciación Sanger de la región afecta del gen UBA1 pudo identificarse (Figura 2) un cambio de base de T por C en la posición descrita previamente en la que se producen las mutaciones de esta entidad. Con esta técnica molecular se llega al diagnóstico definitivo de síndrome VEXAS.

## 7. EVOLUCIÓN



**Figura 2.** Imagen del análisis de la secuenciación Sanger de la muestra de DNA de un CONTROL, donde se evidencia la presencia del nucleótido Timina, en la muestra de nuestro paciente (CASO), la gran mayoría de ese DNA ha sufrido el cambio de base por Citosina, observándose un pequeño porcentaje de lecturas donde aún se detecta Timina, correspondiente con la hematopoyesis *wild-type* residual. Elaboración propia.

Tras establecerse el diagnóstico definitivo de síndrome VEXAS, habiendo descartado la asociación de neoplasias hematológicas asociadas (es frecuente la presencia de datos de displasia en contexto de este síndrome, sin alteraciones citogenéticas o moleculares que fundamenten esa displasia), y conocida la naturaleza autoinflamatoria de la enfermedad (ver más adelante) procede a iniciarse tratamiento mediante uso compasivo con tocilizumab, agente antagonista del receptor de IL6, tras lo cual se produce una desaparición de las lesiones cutáneas y el resto de clínica asociada. Además, una reducción hasta normalización de los reactantes de fase aguda y una progresiva mejoría de las citopenias. Como único efecto adverso asociado, se producen citopenias leves que obligan

a reducir dosis. El control más reciente presenta los siguientes valores: hemoglobina 11.8 g/dL, Leucocitos 2.300 neutrófilos/mm<sup>3</sup>, linfocitos 1.000/mm<sup>3</sup> y PCR de 0,03 mg/dL).

## 8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

El síndrome VEXAS, como ya hemos mencionado, es una entidad de muy reciente caracterización (1) y, que a diferencia de otro tipo de enfermedades autoinflamatorias, es debida a la adquisición de mutaciones de carácter somático en el gen UBA1. El gen UBA1 codifica la enzima E1, principal responsable de la ubiquitinización y el mantenimiento de la homeostasis celular (Tabla 1).

Síndrome VEXAS
Mutación UBA1 (hallazgo obligado)
Posibles hallazgos en sangre periférica: anemia macrocítica, linfopenia, monocitopenia
Posibles hallazgos en médula ósea: médula hiper celular, vacuolas citoplasmáticas, aumento de la relación mieloides/eritroides, displasia, descenso de precursores de células B.
Relación con alteraciones hematológicas: síndrome mielodisplásico, neoplasia de células plasmáticas, trombosis
Relación con alteraciones reumatológicas: policondritis recidivante, síndrome de Sweet, poliartritis nodosa, arteritis de células gigantes.

**Tabla 1.** Resumen de los posibles hallazgos en el síndrome VEXAS.

Debido a que este gen se encuentra en el cromosoma X, la gran mayoría de los pacientes afectados son varones. Las mutaciones responsables del síndrome (la mayoría de ellas mutaciones puntuales afectando al aminoácido 41 metionina (1); aunque también descritas otras en reportes posteriores (2)) condicionan isoformas del transcrito anómalas, que producen enzimas con reducida actividad catalítica, conduciendo a un estado proinflamatorio con aumento de distintas citoquinas proinflamatorias. Esta mutación se produce en células progenitoras hematopoyéticas y por mecanismos aún no conocidos otorga una ventaja proliferativa a la clona mutada reemplazando progresivamente a la hematopoyesis fisiológica, razón por la cual la VAF detectada de estas mutaciones suele rondar el 80%. Esto es así a excepción de en los linfocitos maduros, en los cuales esta disregulación no parece compatible con su supervivencia, explicando, al menos en parte la linfopenia asociada.

A nivel analítico por tanto es frecuente observar una marcada elevación de RFA, mientras que a nivel

hematológico es característicos la presencia de citopenias, fundamentalmente anemia macrocítica y trombopenia, así como la linfopenia ya descrita. En la evaluación morfológica es característica la presencia de ligeros rasgos displásicos, así como la presencia de vacuolas en los progenitores mieloides y eritroides, dato muy característico (aunque puede observarse en alcoholismo, déficit de cobre o zinc, algunos procesos infecciosos o procesos hematológicos, como linfoma de Burkitt u otros linfomas de alto grado y eritroleucemia). Se ha descrito coexistencia hasta en 20-50% con síndromes mielodisplásicos (2), si bien en ocasiones es difícil distinguir entre una verdadera mielodisplasia o simplemente los rasgos displásicos asociados a la entidad. En cualquier caso, los SMD asociados son siempre de bajo riesgo y no se ha descrito progresión a leucemia aguda.

A nivel clínico es característica la presentación con síntomas que pueden recordar a los de otras enfermedades autoinflamatorias/autoinmunes como son el síndrome de Sweet, la policondritis recidivante o la panarteritis nodosa; con síntomas como la fiebre de origen no infeccioso, el deterioro del estado general y la pérdida de peso, aparición de lesiones cutáneas, afectación inflamatoria a nivel condral u ocular (epiescleritis, uveítis, etc.) e infiltrados pulmonares.

Otro rasgo de la enfermedad es la predisposición al desarrollo de trombosis (hasta el 40%), fundamentalmente en forma de trombosis venosas no provocadas. En su patogénesis se involucra fundamentalmente el estado proinflamatorio crónico y la afectación vasculítica.

En cuanto al tratamiento (2), la única opción curativa consiste en la realización de un trasplante hematopoyético alogénico, con la morbilidad y mortalidad asociadas que ello acarrea. El resto de terapias van dirigidas a aminorar la sintomatología, y es por ello que los tratamientos más empleados han sido anti-interleuquinas (tocilizumab, canakinumab, anakinra) y anti-JAK (el de mejor perfil el ruxolitinib) como agentes antiinflamatorios. Otras medidas incluyen la transfusión de hemoderivados y el uso de agentes estimulantes de la hematopoyesis (análogos de eritropoyetina y análogos de trombopoyetina).

### BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Ganz T. Anemia of Inflammation. Longo DL, editor. N Engl J Med. 2019;381(12):1148-57.
- Ganz T. Systemic iron homeostasis. Physiol Rev. 2013;93(4):1721-41.

### BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. Beck DB, Ferrada MA, Sikora KA, Ombrello AK, Collins JC, Pei W, et al. Somatic Mutations in UBA1 and Severe Adult-Onset Autoinflammatory Disease. N Engl J Med. 2020;383(27):2628-38.
2. Al-Hakim A, Savic S. An update on VEXAS syndrome. Expert Review of Clinical Immunology. 2023;19(2):203-15.

## 23 - DÉFICIT GRAVE DEL FACTOR X DE LA COAGULACIÓN

**Autores:** Andrea Tamayo Soto; Lucía Medina de Alba, Nerea Castro Quismondo

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

**Palabras clave:** Hemorragia, Factores de la coagulación, Factor X.

### 1. INTRODUCCIÓN

El factor X es una proteína que juega un papel crucial en la cascada de la coagulación. Es dependiente de la vitamina K y permanece inactivo. La vitamina K participa en la  $\gamma$ -carboxilación de los residuos de ácido glutámico de las proenzimas del factor X, permitiendo la unión a los fosfolípidos y así la formación de los complejos activadores. Es activado por el FVIIa y el FIXa

El déficit grave del factor X de la coagulación es un cuadro raro, que puede ser hereditario (condición autosómica recesiva) o adquirido (lo más común secundaria a amiloidosis). Ocasiona una reducción de la actividad del factor X en el plasma, en donde la actividad decreciente del factor X se correlaciona con el aumento de severidad del sangrado.

La forma más severa se encuentra en pacientes homocigotos, con una prevalencia de 1:1 000 000 a nivel mundial, La forma heterocigota es la más común y leve con una prevalencia aproximada de 1:500 mundialmente. El gen del factor x, localizado en el cromosoma 13, está formado por 8 exones que codifican cada uno un dominio específico.

Los sangrados más comunes asociados al déficit del factor X son los mucocutáneos, sobre todo epistaxis, hematomas y sangrados menstruales. También se han descrito hemartros. Se han reportado hemorragias del SNC en los déficits severos (<10%). En neonatos un déficit grave puede causar sangrado del cordón umbilical o sangrado intracraneal. Pueden ocasionar problemas hemostáticos en cirugías, o sangrados postquirúrgicos, así como tras extracción dentaria, trauma o partos.

La importancia de esta enfermedad radica, en que, aunque el déficit severo es muy raro, la enfermedad se presenta de una manera muy heterogénea y puede resultar en sangrados graves, que pueden ser potencialmente fatales, en particular en niños o recién nacidos.

### 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

#### 2.1 Motivo de consulta:

Niña de 10 años con metrorragia de 8 días de evolución.

#### 2.2 Antecedentes personales:

- Pubertad precoz central en seguimiento por endocrinología
- No alergias conocidas. Síndrome de apnea obstructiva.

#### 2.3 Antecedentes familiares:

- Madre: FN 1992. G1A0V1. Menarquia 12 años. Talla 159 cm. Síndrome de ovario poliquístico Originaria de Santo Domingo.
- Padre: FN 1986. Sano. Talla 168cm. No tienen relación.

#### 2.4 Enfermedad actual:

Niña de 10 años de con los antecedentes descritos, de pubertad precoz, en seguimiento por endocrinología, sin tratamiento activo, que acude a urgencias por presentar metrorragia de 8 días de evolución, en la segunda menstruación, (menarquia 2 meses antes del ingreso). Asociaba gingivorragia espontánea y al cepillado dental.

En la urgencia, se le realiza analítica, donde se objetiva una hemoglobina de 10,4g/dl (previa de 14g/dl hacía un año) y coagulopatía con alargamiento del tiempo de protrombina y del TTPa Es evaluada por Hematología, iniciando tratamiento con ácido tranexámico y vitamina K. Valorada también por Ginecología, realizando ecografía abdominal sin encontrar patología de anejos e indican inicio de tratamiento con anticonceptivos orales. Ingresa en Hematología Pediátrica para ampliar estudios.

#### 2.5 Exploración física:

Triangulo de evaluación pediátrica estable. Buen estado general. Bien hidratada, nutrida y perfundida. Buena coloración de piel y mucosas. No exantemas ni petequias. No signos de dificultad respiratoria. Faringe: normal.

### 3. INFORME DEL LABORATORIO

Se le realizo analítica completa con hemograma, bioquímica (Tabla 1) y coagulación (Tabla 2) en la urgencia en la que destacaba alargamiento del tiempo de protrombina (46 segundos) y del TTPa (60 segundos). El tiempo de trombina y reptilase eran normales. Se realizó mezcla inmediata del TTPa con plasma normal, obteniendo corrección del tiempo, lo que orientaba a un déficit de factores de coagulación. Se solicitó la determinación de factores de vía extrínseca e intrínseca.

HEMOGRAMA		Rango referencia	BIOQUIMICA		Rango referencia
Hemoglobina	10,4 g/dL	11,4-15,1	Creatinina	0,44 mg/dL	0,50-0,90
VCM	85,1 fL	82,1-97,7	Sodio	137 mEq/L	136-145
RDW	13,4 %	11,9-15,6	Potasio	4,38 mEq/L	3,50-5,10
Plaquetas	232 x1000/ $\mu$ L	140-450	Cloro	104 mEq/L	98-107
Leucocitos	5,5 x1000/ $\mu$ L	4,0-11,6	Proteínas Totales	6,2 g/dL	6,4-8,3
Neutrófilos	3,1 x1000/ $\mu$ L	1,8-7,6	Albúmina	4,3 g/dL	3,5-5,0
Neutrófilos %	56,6 %	41,0-72,7	Calcio	9,2 mg/L	8,6-10,2
Linfocitos	1,9 x1000/ $\mu$ L	1,2-4,2	ALT (GPT)	8 U/L	5-34
Linfocitos %	34,0 %	20,1-49,0	AST (GOT)	20 U/L	5-27
Monocitos	0,3 x1000/ $\mu$ L	0,2-0,9	Gamma-GT	10 U/L	5-36
Monocitos %	5,3 %	3,4-10,6	Fosfatasa Alcalina	195 U/L	35-105
Eosinófilos	0,2 x1000/ $\mu$ L	0,0-0,5	Bilirrubina	0,3 mg/dL	0,2-1,0
Basófilos	0,0 x1000/ $\mu$ L	0,0-0,2	Proteína C Reactiva	0,04 mg/dL	0,10-0,50

Tabla 1. Resultados hemograma y bioquímica. Elaboración propia

COAGULACIÓN	1ª Analítica	2ª Analítica
Actividad de Protrombina (AP)	20 % [75 - 140%]	18%
Tiempo de Protrombina (TP)	46.0 sec [9.7 - 13.9]	44.7 sec
INR	3.84 [0.80 - 1.20]	3.73
TTPa	60 sec [26 - 39]	55 sec
TTPa Mezcla	30.10 sec	-
Fibrinógeno (Derivado)	354 mg/dL [200 - 560]	195 mg/dL
Tiempo de Trombina	17 sec [14 - 22]	-
Tiempo de Reptilase	15 sec [14 - 23]	-
Factor II	-	86%
Factor V	-	108%
Factor VII	-	102%
Factor X	-	<1%
Factor VIII	-	126%
Factor IX	-	94%
Factor XI	-	110%
Factor XII	-	94%
Factor X Mezcla	-	49%

Tabla 1. Resultados de coagulación básica y de los factores de coagulación. Elaboración propia

#### 4. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Ante la posibilidad de amiloidosis, junto con los demás signos y síntomas clínicos que presentaba el paciente, se decide consultar a otros servicios.

#### 5. EVOLUCIÓN

El día del ingreso se inicia tratamiento con ácido tranexámico y vitamina K. Al saberse el diagnóstico, el segundo día, se inició terapia de reemplazo con complejo protrombínico (Beriplex®), objetivándose una corrección de los niveles del factor X hasta 24%. A las 24 horas se repite la dosis, encontrándose nuevamente valores de factor X de 26%.

A las 48 horas de la administración del complejo protrombínico, presenta empeoramiento de los niveles de la coagulación con AP de 48%, TP de 21 segundos INR de 1.79 y TTPa de 32sec, con empeoramiento de los niveles del factor X en niveles no hemostáticos (13%). Se le administró otra dosis de complejo protrombínico.

La paciente presentó una anemia con una hemoglobina de 7.8 g/dl, sintomática, necesitando transfusión sanguínea, por lo que se solicitó valoración por Ginecología quienes indican que puede recibir anticonceptivos orales cada 8 horas hasta resolución de sangrado (máximo 7 días). Recibió anticonceptivos orales cada 8 horas durante 3 días, y posteriormente cada 24 horas.

Se le realizó un estudio de factores de la coagulación a la madre de la paciente, quien presentó un déficit leve del Factor X del 59%. No se pudo realizar estudio al padre de la paciente.

Tras el alta, la paciente acude a revisiones en la consulta externa, manteniendo tratamiento con complejo protrombínico (1000UI) cada 2 semanas, así como levonorgestrel y hierro oral.

Acude a nueva consulta donde se objetiva empeoramiento de la coagulación con actividad de Protrombina 29 %, Tiempo de Protrombina 26.7 sec, INR (Laboratorio) 2.26, TTPa 48 sec factor X 6 %. Se decide iniciar administración de complejo protrombínico 2 veces por semana; martes y viernes. La paciente es derivada al hospital de la Paz para seguimiento.

#### 6. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

El déficit grave del factor X está asociado a mayor riesgo de sangrados, como se ha dicho previamente, a nivel mucocutáneo; gastrointestinales, hemartros, o en caso muy graves a nivel del SNC. Las niñas o mujeres pueden presentar metrorragia y complicaciones asociadas con la gestación y el parto.

La necesidad de tratamiento dependerá del tipo y gravedad del episodio hemorrágico. En general se considera un 20% de factor X como rango hemostático.

La profilaxis continuada sólo es requerida en pacientes graves con factor < 1%. La experiencia existente es limitada y normalmente se trata de una profilaxis intermitente.

Las opciones terapéuticas en la metrorragia pueden ser los antifibrinolíticos, dispositivos intrauterinos con levonorgestrel, anticonceptivos orales y terapia de reemplazo del factor con plasma fresco congelado o complejo protrombínico.

Aunque los niveles del factor X aumentan durante la gestación, las mujeres con deficiencia severa del factor X pueden presentar complicaciones como aborto espontáneo, placenta previa o parto prematuro. Sería necesario mantener niveles de factor X >30% durante el parto, así como una apropiada monitorización para minimizar el riesgo de complicaciones trombóticas, sobre todo las pacientes que recibieron el complejo protrombínico, ya que aumenta los niveles, sin distinción, de todos los factores de coagulación.

El déficit adquirido de factor X se ha asociado con mayor frecuencia a la amiloidosis primaria (14% del total de paciente con amiloidosis), enfermedad hepática severa o terapia con antagonistas de la vitamina K. También se han descrito en pacientes con quemaduras o infecciones respiratorias. Las características clínicas son similares a las de la deficiencia hereditaria del factor X, aunque el sangrado no siempre se correlaciona con los niveles del factor en estos pacientes. El tratamiento en general es terapia de reemplazo y corticoides. A diferencia de los pacientes con la enfermedad hereditaria, la deficiencia adquirida es de corta duración, con algunos pacientes demostrando normalización espontánea de los niveles de la coagulación.

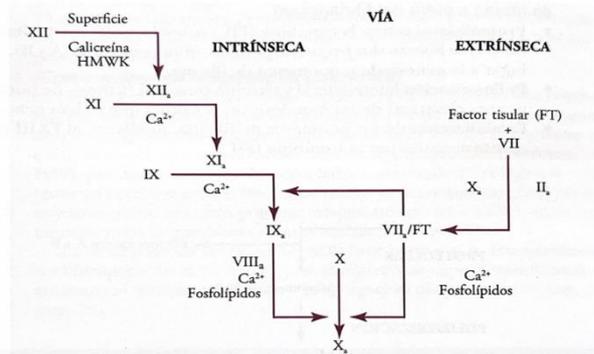


Figura 19.5. Activación del factor X. Vías intrínseca y extrínseca.

Figura 1. Cascada de la coagulación, activación del factor X. Tomado de: San Miguel F y col. 2020.

#### BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Peyvandi F, Auerswald G, Austin SK, Liesner R, Kavakli K, Álvarez Román MT, et al. Diagnosis, therapeutic advances, and key recommendations for the management of Factor X deficiency. *Blood Reviews*. 2021;50:100833.
- Lee G, Duan-Porter W, Metjian A. Acquired, non-amyloid related factor X deficiency: Review of the literature. *Haemophilia*. 2012;18(5):655–63.
- San Miguel F, Sánchez-Guijo JS. *Hematología. Manual Básico Razonado*. AMSTERDAM: ELSEVIER; 2020.

## 24 - DÉFICIT PRECOZ DE VITAMINA K NEONATAL.

**Autores:** Lucía Medina de Alba, Andrea Tamayo Soto, Mario Rodríguez Rodríguez.

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

**Palabras clave:** Hemorragia, Neonato, Vitamina K

### 1. INTRODUCCIÓN

La vitamina K o fitomenadiona es una vitamina soluble cuya función principal es ser cofactor para la síntesis de los factores de coagulación II, VII, IX, X y las proteínas C y S. Dichos factores requieren para su activación de la acción de la enzima  $\gamma$ -carboxilasa junto con la vitamina K, para carboxilar los residuos de glutamato de la región N-terminal y permitir así su unión al calcio.

El déficit de vitamina K es excepcional en niños y adultos sanos dada su amplia distribución en vegetales y su fácil reutilización dentro de las células. Por el contrario, los recién nacidos (RN) presentan un riesgo aumentado de Enfermedad Hemorrágica por déficit de vitamina K debido a su inmadurez hepática para sintetizar de forma efectiva los factores de coagulación dependientes de la fitomenadiona, siendo sus niveles habituales un 20% del normal en adultos. Además, los RN tienden a presentar un bajo almacenamiento debido al escaso contenido de vitamina K en la leche materna, la insuficiente transferencia placentaria y a la inmadurez de su estómago para microbiota.

Los sangrados por déficit de vitamina K suelen ser mucocutáneos, gastrointestinales, umbilicales y, en situaciones graves, intracraneales (HIC). El diagnóstico de sospecha se basa en la presentación clínica acompañada de un estudio de coagulación básico con alargamiento del tiempo de protrombina (TP) y el INR, pudiendo asociar si el déficit es grave, alargamiento del tiempo de cefalina (TTPa) (Figura 1). El recuento de plaquetas y leucocitos, al igual

que el fibrinógeno se mantienen en rango de normalidad. El diagnóstico de confirmación se realiza mediante la demostración variable de la reducción de actividad de los factores de coagulación dependientes de vitamina K.

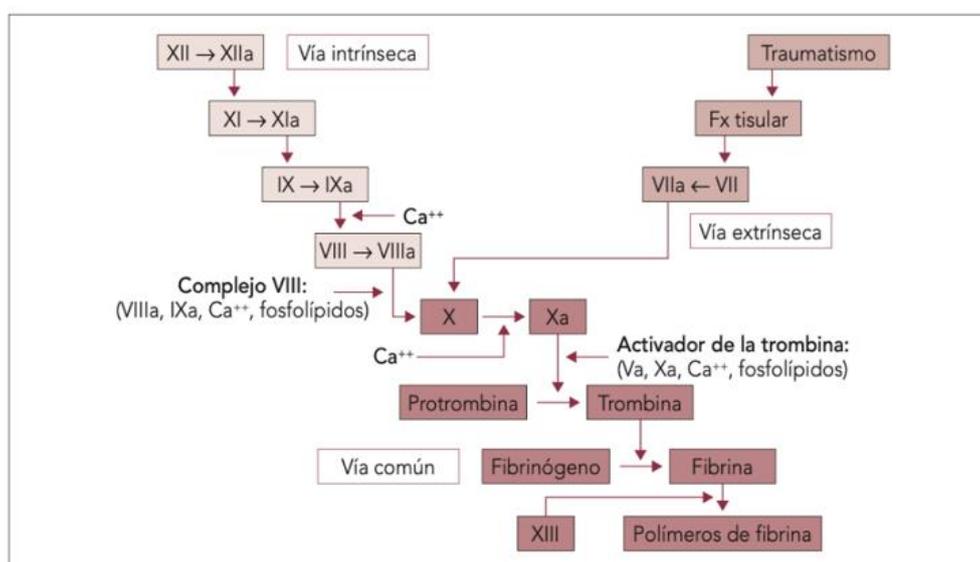
Debido a la alta morbilidad que puede suponer un sangrado en un RN se ha estandarizado el uso profiláctico de vitamina K oral o parenteral al nacimiento. En caso de sospecha de déficit se ha de iniciar suplementación independientemente de la presencia o ausencia de clínica hemorrágica. Ante un RN con clínica hemorrágica ha de valorarse la administración de plasma fresco congelado (PFC) a dosis de 15mL/kg o, en caso de diagnóstico confirmado, complejo protrombínico (CCP) a dosis de 20U/Kg. La efectividad del tratamiento se mide mediante el TP y la determinación del FVII.

La relevancia de esta patología radica en que, a pesar del descenso de prevalencia por el uso de profilaxis al nacimiento, en caso de acontecer, sigue siendo una causa de alta morbilidad en niños especialmente en su forma precoz.

### 2. HISTORIA CLÍNICA

#### 2.1 Motivo de consulta:

Hemorragia en Recién nacido varón de 38 semanas de gestación con parto por cesárea.



**Figura 1.** Esquema de las vías de la coagulación. Tomado de: Álvarez Román MT, Soto Ortega I, et al., editores. Hemostasia y trombosis en la práctica clínica. Madrid: Ergon; 2018.

## 2.2 Antecedentes personales:

Sin antecedentes personales que reportar. Gestación controlada con ecografías seriadas sin datos de patología orgánica.

## 2.3 Antecedentes familiares:

Sin antecedentes familiares de diátesis hemorrágica. No otros antecedentes familiares de interés que reportar.

## 2.4 Antecedentes maternos:

Gestante de 23 años de raza caucásica, obesa (IMC 35) con antecedentes obstétricos de G2A1 y antecedentes médicos de diabetes mellitus pregestacional controlada con insulina. Durante el embarazo mantuvo un adecuado seguimiento en consultas, detectándose entre las semanas 14-31 urocultivo persistentemente positivo para *Klebsiella pneumoniae* sensible tratado con amoxicilina/clavulánico y fosfomicina en ciclos. Grupo sanguíneo materno A positivo. Serologías de screening prenatal negativas, inmunizada para rubeola.

## 2.5 Enfermedad actual:

Neonato varón nacido mediante cesárea urgente por sospecha de pérdida de bien estar fetal (SPBF) debido a taquicardización >200 lpm, pH de microtoma de 7,21 repetidamente, líquido amniótico teñido con bolsa rota de >14 horas y fiebre materna de 37.9°C pese a antibioterapia con ampicilina, gentamicina y clindamicina. Al momento de nacer, peso de 4 Kg, pH capilar de 7,30, ácido láctico de 2,8 mmol/L, ausencia de esfuerzo respiratorio y nulo tono muscular (APGAR de 2 al minuto de vida). Se apreciaron dos heridas sangrantes en calota en relación con microtoma parto y se objetivó meconio prenatal.

Se iniciaron en paritorio medidas de resucitación con aspiración de secreciones, ventilación de presión positiva intermitente (VPPI) durante 7 minutos con FiO<sub>2</sub> máxima de 0,5, manteniendo en todo momento frecuencia cardíaca por encima de los 100 lpm. De forma progresiva APGAR 2-5-6 (1 minuto, 5 minutos y 10 minutos de vida) con mejoría del tono muscular. Ante la persistencia de dificultad respiratoria se inició soporte con DUOPAP. Tras la estabilización inicial se objetivó la aparición de hematomas en miembros inferiores y superiores sin otros datos de sangrado, se administró la dosis profiláctica de 1mg vitamina K intramuscular y se trasladó con ventilación no invasiva ciclada a la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales (UCIN).

## 2.6 Exploración física:

Tras estabilización en paritorio, se trasladó a UCIN donde se realizó una exploración física reglada, destacando:

Somatometría al nacimiento:

- Peso: 4,000 kg (p96).
- Longitud: 58 cm (p98).
- Perímetro craneal: 34,5 cm (p63).

Se objetivó la aparición de hematomas, aproximadamente 6-7, predominantemente a nivel de los miembros inferiores. Además, asociaba sangrado en sábana a nivel occipital en probable relación con monitorización intraparto

acompañado de sangrado en cavidades nasal y bucal constante, pero de escasa cuantía. En todo momento mantuvo un nivel de consciencia adecuado para la edad. A la auscultación pulmonar presentaba crepitación leve y conservaba el tono muscular; pero, mantenía esfuerzo respiratorio dificultoso.

## 2.7 Primeras horas de evolución:

Tras su estabilización en UCIN se solicitó una analítica urgente que reflejó un hemograma sin citopenias y una coagulación básica con alteración de vía la extrínseca TP 3%, INR 21,9 con afectación conjunta de la vía intrínseca con TTPa de 195 segundos. Se amplió de urgencia un tiempo de trombina de 20 segundos y un tiempo de reptilasa de 20 segundos, sugiriendo la contaminación de la vía por heparina. Dicha heparinización de la muestra explicaría la alteración de la vía intrínseca; pero, pese a que la heparina puede afectar en altas dosis a la vía extrínseca, no llega a justificar la llamativa elevación del INR.

En este momento se decidió extraer nueva muestra de coagulación para confirmar la alteración y administrar de modo preventivo una nueva dosis de 1 mg de vitamina K intravenosa pese a la ausencia de sangrado. Además, dado el deterioro respiratorio se realizó una radiografía torácica donde se objetivó un infiltrado alveolar bilateral de predominio derecho que en el contexto clínico del RN podría ser consecuencia de un síndrome de aspiración meconial o una hemorragia pulmonar alveolar por coagulopatía. La nueva muestra de coagulación confirmó la alteración objetivada previamente, descartando la heparinización de la vía y, se utilizó para realizar un test de mezclas que corrigió la alteración de la coagulación. Por otro lado, ante el alto riesgo de infección debido a la fiebre materna intraparto con cultivos persistentemente positivos para *Klebsiella pneumoniae* durante el embarazo y la bolsa rota de larga data, se inició antibioterapia empírica con ampicilina, gentamicina y cefotaxima.

## 3. PRUEBAS COMPLEMENTARIAS

Se realizaron una serie de pruebas complementarias en laboratorio cuyos resultados quedan reflejados en las Tablas 1 y 2.

## 4. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

En resumen, nos encontramos ante un neonato que al momento de vida presentaba dificultad respiratoria, clínica hemorrágica y una coagulación básica con alteración de ambas vías manteniendo niveles de fibrinógeno en rango.

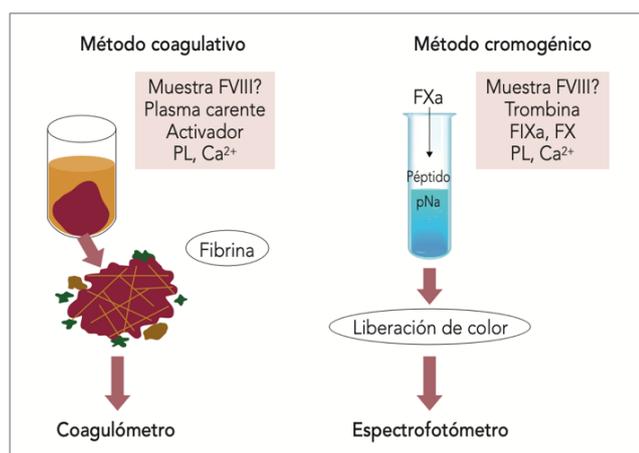
La dificultad respiratoria en un recién nacido a término podría estar motivada por diversas causas: taquipnea transitoria, síndrome de aspiración meconial, neumonía o, de forma excepcional, hemorragia pulmonar, etc. Teniendo en cuenta el líquido amniótico teñido, la edad gestacional y la clínica respiratoria, con mayor probabilidad podría tratarse de un síndrome de aspiración meconial.

Por otro lado, la alteración de ambas vías de la coagulación podría estar provocada por diferentes causas, a destacar:

- Sepsis.

- Fallo hepático.
- Coagulación Intravascular Diseminada (CID).
- Exposición a fármacos como dicumarínicos, cefalosporinas, antipsicóticos, rifampicina.
- Déficit factoriales: hemofilia congénita, déficit de la vía común.
- Déficit adquirido de vitamina K.
- Disfunción de la enzima  $\gamma$ -carboxilasa o de la epóxido reductasa.
- Anticoagulante lúpico (AL).
- Enfermedad de von Willebrand grave.
- Déficit factorial combinado FV y FVIII.

Dada la normalidad de los reactantes de fase aguda, el perfil hepático en rango que descarta isquemia hepática por insuficiencia respiratoria con bajo gasto, la ausencia de descenso de fibrinógeno y la ausencia de exposición a fármacos relacionados con alteraciones de la coagulación durante el embarazo; impresiona que la causa de la coagulopatía fuese debida a un déficit factorial. Con la segunda muestra remitida a laboratorio se realizó un estudio de los factores de ambas vías de la coagulación, quedando los resultados reflejados en la Tabla 1. Se obtuvo un déficit grave de factores vitamina K dependientes (II, VII, IX y X), lo que justifica una prolongación tanto del TP como del TTPa. Dicho estudio se llevó a cabo mediante el método coagulativo utilizando reactivos deplecionados del factor objeto de estudio con el resto de los factores en proporción normal. Estos, al mezclarse con el plasma del paciente permiten obtener un tiempo de coagulación medio al formarse fibrina que es inversamente proporcional a la concentración del factor a estudio (Figura 2).



**Figura 2.** Esquema representativo de los métodos coagulativo y cromogénico de determinación de nivel de factores. Tomado de: Álvarez Román MT, Soto Ortega I, et al., editores. Hemostasia y trombosis en la práctica clínica. Madrid: Ergon; 2018.

El nivel del resto de factores se encontraba dentro de la normalidad para la edad del paciente y el resultado de AL resultó negativo. Con estos resultados quedaría descartada la posibilidad de una hemofilia A o B congénita, la

enfermedad de von Willebrand y el déficit factorial combinado de factor V y factor VIII.

## 5. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Se puede afirmar con los resultados del laboratorio de coagulación y, dada la compatibilidad con la clínica del paciente, que el neonato presentaba un déficit de vitamina K precoz asociado a un síndrome de aspiración meconial.

## 6. EVOLUCIÓN

Una vez establecido el diagnóstico se inició la suplementación con vitamina K, de la cual recibió un total de 2mg sin incluir la dosis profiláctica estándar de 1 mg. A las 24 horas de vida el paciente presentó una anemia con nadir de hemoglobina de 11g/dl asociado a taquicardización. Se realizó de forma urgente estudio ecográfico abdominal que no detectó sangrados y una ecografía transfontanelar donde no se apreciaron datos de sangrado intracraneal. Dada la presencia de coagulopatía con anemia y, ante la recurrencia del sangrado en sábana en la calota occipital pese al cierre de la herida por cirugía pediátrica y a la administración de vitamina K, se decidió transfundir un de concentrado de hematíes a dosis de 15 ml/kg y de PFC a dosis de 15 ml/kg. Ambas acciones lograron no sólo mejorar hemodinámicamente al neonato restaurando unos niveles de hemoglobina adecuados, sino cesar el sangrado y corregir las alteraciones de ambas vías de la coagulación. Además, tras 48 afebril y sin nuevos datos de sangrado o anemia, se retiró la antibioterapia empírica.

A los cuatro días de vida el paciente presentó un pico febril de 39,6°C, bien tolerado hemodinámicamente sin deterioro respiratorio asociado. Dada la ausencia de antibioterapia y de catéteres vasculares, se realizó un despistaje de causas infecciosas, mediante hemocultivos, urocultivo, radiografía de tórax, exudado nasofaríngeo, exudado perianal, coprocultivo y punción lumbar. Se inició antibioterapia empírica con cefotaxima y vancomicina. Los resultados de las pruebas solicitadas quedan reflejados en la Tabla 2. Ante la detección de enterovirus mediante FilmArray en LCR se procedió a la monitorización de función cerebral, registrándose a las 48 horas del primer pico febril trazos sugestivos de crisis eléctricas sin correlato clínico que cesaron tras la administración de un bolo de 20 mg/kg de fenobarbital. El neonato fue valorado por Neurología que realizó una exploración neurológica reglada y un electroencefalograma convencional que resultaron normales, no precisando la administración de más dosis de antiepilépticos. Se realizó despistaje de afectación hepática con seriación diaria de transaminasas durante 72 horas y de afectación cardíaca mediante ecocardiograma y enzimas cardíacas, no encontrando signos de afectación orgánica a dicho nivel. La evolución fue favorable, permaneciendo afebril tras 48 horas y sin repetir registros eléctricos convulsivos.

Progresivamente, el paciente presentó mejoría respiratoria, logrando reducir paulatinamente las necesidades de oxigenoterapia hasta su retirada 11 días tras el nacimiento.

Con ello se trasladó a cuidados intermedios y de vida.  
posteriormente a planta siendo dado de alta a los 18 días

Prueba	Muestra	Resultado
Hemograma	Sangre	Hemoglobina 14,7 g/dl, VCM 98,9 ft
		Plaquetas 230 x1000/ul
		Leucocitos 18,5 x1000/ul Neutrófilos 13,6 x1000/ul Linfocitos 2,9 x1000/ul
Bioquímica	Suero	AST, ALT, GGT, FA = Normal Bilirrubina = 10,1 mg/dl
Coagulación básica ACL TOP500	Plasma	AP = 3%
		TP = 250,1 sec
		INR (lab): 21,09
		TTPa 195 sec
		Fibrinógeno (derivado) = 357 mg/dl
		TT = 20 sec
		TR = 20 sec
Coagulación especial ACL TOP500	Plasma	FII = 1%
		FV = 69%
		FVII = 1%
		FX = 1%
		FVIII = 233%
		FIX = 1%
		FXI = 43%
		FXII = 53%
AL = Negativo		
Radiografía de tórax	-	Patrón alveolar bilateral con predominio derecho.
Ecografía transfontanelar	-	Normal
Ecografía abdominal	-	Normal

**Tabla 1.** Resultados de las pruebas de imagen y laboratorio solicitadas para dilucidar el origen de la coagulopatía. AP: actividad de protrombina; TP: tiempo de protrombina; TTPa: tiempo de cefalina; INR: ratio internacional normalizado; AL: anticoagulante lúpico. Elaboración propia.

Prueba	Muestra	Resultado
Hemocultivo	Sangre	Estéril
Urocultivo	Orina	Estéril
Punción lumbar	LCR	Leucocitos 8 céls/mm <sup>3</sup> Hematíes 8 céls/mm <sup>3</sup> Glucosa 42 mg/dl Proteínas 0.64 g/dl Xantocromía ligera
FilmArray	LCR	Enterovirus positivo
Ecocardiograma	-	Normal
Electroencefalograma	-	Normal
Radiografía de tórax	-	Infiltrados alveolares en resolución
Exudado rectal y nasal	-	Negativos

**Tabla 2.** Resultados de las pruebas de imagen y laboratorio solicitadas para dilucidar el origen del pico febril.  
LCR: líquido cefalorraquídeo. Elaboración propia.

## 7. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

El déficit de vitamina K se clasifica según el momento de aparición en tres categorías. El sangrado precoz, que aparece en las primeras 24 horas de vida, tiene hasta un 25% de incidencia de HIC y se relaciona con el consumo de ciertos medicamentos durante la gestación (antipsicóticos, anti-coagulantes...). El más común, el sangrado clásico entre los 2-7 días de nacimiento que se previene con la administración de 1 mg de vitamina K profiláctico. Y, por último, el sangrado tardío entre la segunda semana y los 8 meses de vida con una incidencia de hasta el 50% de HIC en RN que no recibieron profilaxis.

Se conocen tres formas de vitamina K; la K1 que es la predominante en la circulación y proviene de los vegetales de hoja verde; la K2 que se adquiere mediante la dieta y un porcentaje es sintetizado por la flora intestinal estomacal; y la K3 cuya formulación sintética puede provocar anemia hemolítica en la administración a neonatos con déficit de 6-fosfato deshidrogenasa.

Dada la extensión de la vitamina K en la alimentación, encontrar déficit en adultos es infrecuente. Del mismo modo, la aparición de un déficit de vitamina K precoz en los RN que reciben profilaxis es excepcional; estando normalmente asociado a neonatos que no reciben profilaxis o cuyas gestantes han presentado preeclampsia, toma de ciertos medicamentos o que presentan alteraciones gastrointestinales. Además, los insuficientes niveles de vitamina K transplacentaria, menores de 0.02 ng/ml en cordón umbilical al nacimiento, y los escasos aportes en la leche materna, influyen en el decrecimiento de las reservas.

Pese a que la detección sérica de vitamina K puede ser útil en la práctica clínica no se realiza debido a su elevado precio y la complejidad de la técnica, los valores de

referencia se sitúan entre 0.2 y 1.0 µg/L. Por otro lado, como se ha visto reflejado a lo largo de este caso, el déficit repercute de forma directa en la elevación del INR más de cuatro veces el límite superior de la normalidad, logrando de forma indirecta una determinación indicativa de los niveles. Ahora bien, dado que la alteración de ambas vías puede deberse a diferentes etiologías, la determinación de factores sigue siendo el método de diagnóstico de elección. Ante la morbimortalidad que puede presentar un neonato con clínica hemorrágica, la determinación de la actividad factorial tiene que hacerse accesible a todos laboratorios de centros con maternidad.

## BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Álvarez Román MT, Soto Ortega I, et al., editores. Hemostasia y trombosis en la práctica clínica. Madrid: Ergon; 2018.
- Araki S, Shirahata A. Vitamin K Deficiency Bleeding in Infancy. *Nutrients*. 2020;12(3):780.
- Jullien S. Vitamin K prophylaxis in newborns. *BMC Pediatr*. 2021;21(1):350.
- Card DJ, Gorska R, Harrington DJ. Laboratory assessment of vitamin K status. *J Clin Pathol*. 2020;73(2):70-75.
- Shearer MJ. Vitamin K deficiency bleeding (VKDB) in early infancy. *Blood reviews*. 2009;23:49-59.
- Ceratto S, Savino F. Vitamin K deficiency bleeding in an apparently healthy newborn infant: the compelling need for evidence-based recommendation. *Ital J Pediatr*. 2019;45(1):30.

- Volpe JJ. Intracranial Hemorrhage in Early Infants – Renewed Importance of Vitamin K Deficiency. Pediatric Neurology. 2014;50:545-546. due to omission or refusal of prophylaxis at birth. Pediatric Neurol. 2014; 50:564-568.
- Schulte R, Jordan LC, Morad A, et al. Rise in late onset vitamin K deficiency bleeding in young infants

## 25 - DETECCIÓN DE CÉLULAS ATÍPICAS EN LÍQUIDO ASCÍTICO

**Autores:** Mónica Pascual Ramírez de Arellano, Raquel Victoria Melgares de Aguilar, Alba María Fernández del Pozo.

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

**Palabras clave:** Líquido ascítico, Carcinomatosis peritoneal.

### 1. INTRODUCCIÓN

El líquido ascítico se produce en la cavidad abdominal con la función de lubricar la superficie del tejido que recubre la pared abdominal y la cavidad pelviana, y además sirve de revestimiento para la mayoría de los órganos del abdomen. En cuanto a su composición, el líquido ascítico se forma como un ultrafiltrado del plasma. En condiciones fisiológicas, hay una pequeña cantidad de líquido en este espacio. Un sistema complejo de dinámica de fluidos regula el volumen normal de líquido. Cuando se alteran los mecanismos fisiológicos responsables de la formación o absorción del líquido seroso se produce un aumento excesivo del mismo. Cuando excede de 25 mL y además aumenta progresivamente se denomina ascitis.

Una acumulación de líquido ascítico puede ser consecuencia de una gran variedad de condiciones, siendo la cirrosis del hígado responsable de aproximadamente el 75% de todos los pacientes con ascitis. La malignidad representa el 10-12% y la insuficiencia cardíaca alrededor del 5%. El 8-10% restante de los casos de ascitis tiene un origen diverso de causas, que incluye tuberculosis, enfermedad pancreática o enfermedad renal. Un diagnóstico temprano y preciso a menudo depende de un análisis adecuado del líquido ascítico. La obtención del espécimen para su estudio se realiza por paracentesis abdominal.

Como ya se ha comentado, los tumores metastásicos son una causa frecuente de derrame. El mecanismo por el que actúan se debe a la obstrucción de los vasos linfáticos de drenaje provocada por las metástasis ganglionares. En los derrames peritoneales las células tumorales que predominan son las que corresponden a la extravasación por neoplasias del tracto gastrointestinal y ovario. Su observación en el estudio citológico acompañado de un análisis bioquímico es de una gran utilidad diagnóstica puesto que permite en numerosas ocasiones orientar el diagnóstico de forma rápida, facilitando el manejo posterior del paciente.

El recuento en cámara y el estudio de la celularidad mediante microscopía óptica han sido consideradas tradicionalmente como método de referencia. Sin embargo, el avance tecnológico ha permitido el desarrollo de módulos de análisis específicos para los líquidos biológicos, incorporados en analizadores de hematología y orinas, que ofrecen una automatización del recuento celular acortando así los tiempos de respuesta y ofreciendo una mejor reproducibilidad de los resultados. Durante este caso clínico se demuestra la importancia del manejo de estos equipos como herramienta básica de cribado junto con la revisión al

microscopio óptico de aquellos casos con parámetros anómalos.

### 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

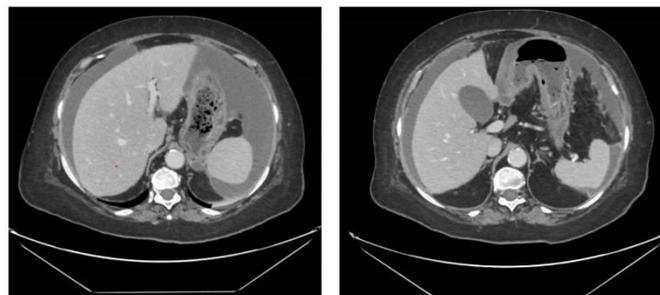
#### 2.1 Motivo de consulta:

Mujer de 77 años, que acude al servicio de Urgencias de nuestro hospital, en noviembre del año 2022 por dolor abdominal de varios meses de evolución con predominio en la fosa ilíaca derecha sin otra clínica significativa.

Ante elevación de PCR en Urgencias, se le realiza una prueba de imagen que muestra ascitis marcada con datos sugestivos de carcinomatosis peritoneal no conocida previamente, así como lesión quística anexial bilateral. Por este motivo nada más llegar a planta se realiza paracentesis con obtención de 250 mL de líquido ascítico de aspecto amarillento oscuro con abundantes hematíes que se envía al laboratorio para ser analizado.

Durante el ingreso se le realiza una laparoscopia diagnóstica observándose afectación miliar difusa de la serosa, de gran parte del intestino grueso y delgado, así como de la superficie de ambos diafragmas, de todo el peritoneo parietal y del omento. Impresiona de Omental Cake (engrosamiento anormal del epiplón mayor). Además, también se toman múltiples biopsias peritoneales para ser estudiadas por anatomía patológica.

Una vez obtenidas las muestras pertinentes y observando una mejoría del dolor abdominal se procede al alta con cita en la consulta de oncología médica y en medicina interna para revisión de los resultados.



**Figura 1.** Tomografía computarizada (TC) abdomino-pélvica sin contraste en donde se observa abundante líquido intraperitoneal. Elaboración propia.

#### 2.2. Antecedentes personales:

Entre los antecedentes personales, destacan:

- Diabetes Mellitus tipo II.

- Dislipidemia.
- Hipotiroidismo.
- Cataratas en ambos ojos.
- Artrosis. Espondiloartrosis lumbar. Listesis lumbar grado III.

La paciente no presenta alergias conocidas ni hábitos tóxicos de interés.

Desde enero de 2018 acude regularmente a la consulta de ginecología por incontinencia urinaria y varios episodios de infecciones del tracto urinario (ITU).

La paciente presenta dificultad para moverse por obesidad y caída reciente por lo que precisa andador desde antes del ingreso hospitalario.

### 2.3. Antecedentes familiares:

La paciente no presenta antecedentes familiares de interés.

## 3. INFORME DEL LABORATORIO

Al llegar a Urgencias la analítica sanguínea no muestra alteraciones relevantes a excepción de una PCR elevada de 18,46 mg/dL

- La función renal, el perfil hepático, los iones, el calcio y el fósforo se encuentran en rango.

### 3.1. Bioquímica del líquido ascítico:

La medición de albúmina en líquido ascítico junto con su <determinación en suero y el cálculo del gradiente albúmina sérico-ascítico (GASA) (albúmina suero – albúmina líquido) permite clasificar las causas de la ascitis en dos grandes bloques (Tabla 1), permitiendo al clínico determinar si la ascitis está relacionada con una hipertensión portal o descartar este origen. Es importante que ambas muestras se obtengan en puntos de tiempo relativamente cercanos (lo ideal es la extracción simultánea de ambos especímenes) ya que la hipertensión portal es un proceso dinámico y puede variar en periodos cortos de tiempo.

Si GASA > 1,1 se puede asumir que el paciente tiene una

GASA ≥ 1,1 g/dL	GASA < 1,1 g/dL
Cirrosis	Síndrome nefrótico
Fallo hepático fulminante	Carcinomatosis peritoneal
Hígado graso embarazo	Tuberculosis (sin cirrosis)
Metástasis hepáticas	Pancreatitis (sin cirrosis)
Trombosis de la vena porta	Enfermedad biliar
Hepatitis alcohólica	Enfermedades del tejido conectivo (serositis)
Síndrome Budd-Chiari	Clamidia/Gonococo
Enfermedad veno-oclusiva	
Mixedema	

**Tabla 1.** Clasificación de ascitis en función del cálculo de gradiente albúmina sérico-ascítico (GASA). Adaptado de: McHutchison. J. G, 1997.

hipertensión portal con más del 90% de fiabilidad.

Por otro lado, también es de gran utilidad la comparación de lactato deshidrogenasa (LDH) en suero y líquido ascítico obtenidos de manera simultánea, ya que, en los casos de malignidad, el cociente LDH líquido/LDH suero suele ser mayor de 1.

Los resultados de la primera muestra de líquido ascítico de la paciente obtenidos en el laboratorio fueron los siguientes (Tabla 2):

PRUEBA	RESULTADO
Glucosa líquido (mg/dl)	92
Proteínas líquido (g/dl)	5,2
Albúmina líquido (g/dl)	2,9
Albúmina suero (g/dl)	3,7
LDH líquido (U/L)	509
LDH suero (U/L)	294

**Tabla 2.** Resultados obtenidos del análisis de líquido ascítico y suero. Elaboración propia.

Con estos valores, el gradiente GASA toma un valor de 0.8. Como GASA < 1,1 podemos concluir que la ascitis no se debe a una hipertensión portal y habría que explorar otras causas.

Entre los resultados también destaca la elevada LDH en líquido (509 U/L) y por tanto el cociente respecto a su determinación en suero, que sería, en este caso sí, superior a 1.

### 3.2. Estudio citológico:

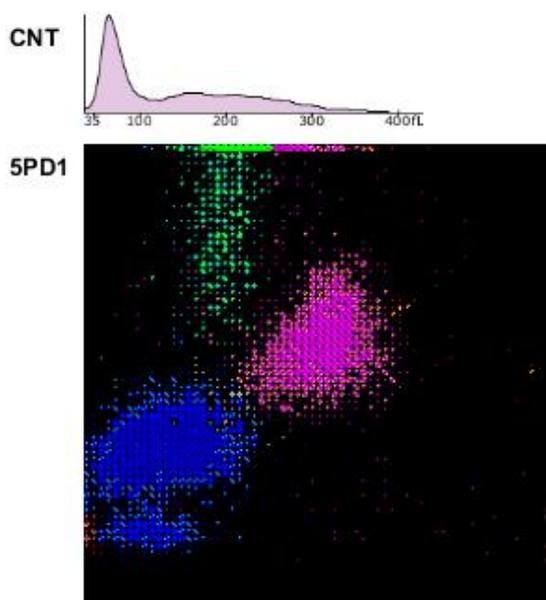
El analizador hematológico empleado fue Unicel DxH 800/900, capaz de identificar células usando la tecnología Coulter, basada en el principio de impedancia. Estos equipos disponen de un módulo específico para la determinación del total de células nucleadas (TNC-BF) así como del conteo de hematíes (RBC-BF) en líquidos biológicos, utilidad aprobada por la FDA. Además, proporcionan un recuento diferencial de las células nucleadas, agrupándolas en dos poblaciones, polimorfonucleares (PMN-BF) y mononucleares (MN-BF).

Los resultados obtenidos en las primeras muestras de líquido ascítico fueron (Tabla 3).

En el escatergrama obtenido, donde se representa la agrupación de las diferentes poblaciones de leucocitos en función de su volumen y su complejidad, se observa una mancha anómala de distribución de los monocitos, (representada en color verde), que nos hace sospechar de la existencia de células mononucleadas no leucocitarias y cuya aparición es típica de procesos tumorales (Figura 2).

PRUEBA	RESULTADO
Hematíes/ $\mu$ L	9114
Leucocitos/ $\mu$ L	4776
Neutrófilos %	38,5
Linfocitos %	48,2
Monocitos %	12,1
Eosinófilos %	0,6
Basófilos %	0,6

**Tabla 3.** Resultados del líquido ascítico obtenidos por el analizador Unicel DxH 800/900. Elaboración propia.



**Figura 2.** Histograma de impedancia de células nucleadas (parte superior) y escatergrama con diferenciación de 5 poblaciones del líquido ascítico (parte inferior). Obtenidos por el analizador Unicel DxH 800/900.

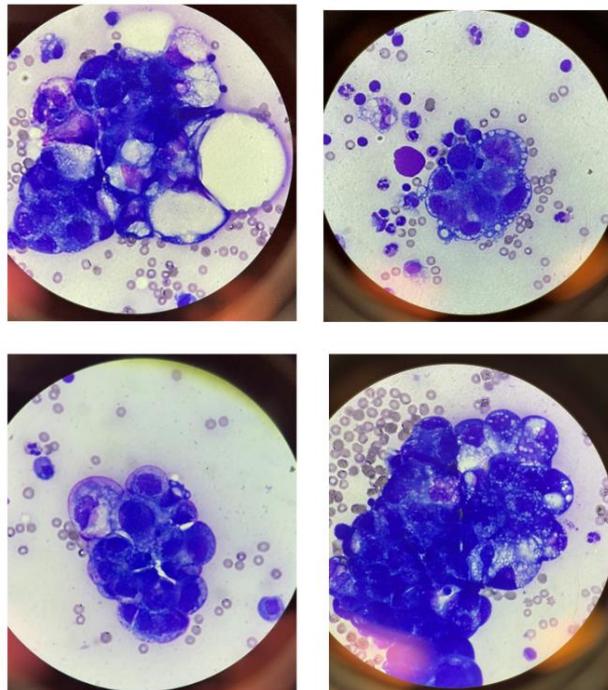
Por ello, ante la sospecha de malignidad se le realizó una citocentrífuga a 1000 rpm durante 5 minutos y se hizo una tinción Wright Giemsa para posteriormente observar la preparación al microscopio óptico.

Se observaron células con las siguientes características típicas de malignidad:

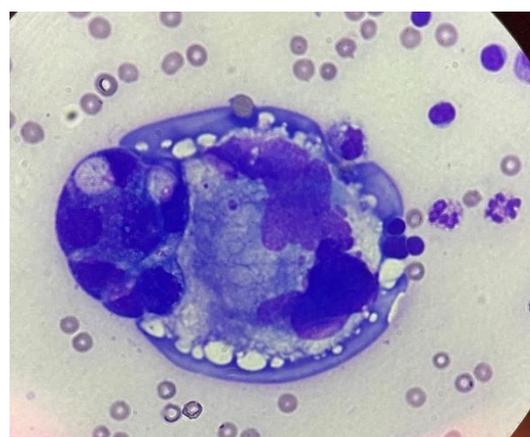
- Tendencia a agruparse y formar "nidos celulares"
- Relación núcleo/citoplasma aumentado
- Células de gran tamaño, con frecuencia binucleadas o multinucleadas
- Intensa basofilia citoplasmática

- Canibalismo de las células neoplásicas
- Alto contenido de vacuolas en uno de los polos del citoplasma.

Con todo esto, se decidió informar a los clínicos ante la presencia de células atípicas con características morfológicas compatibles con malignidad. (Figuras 3 y 4).



**Figura 3.** Recopilación de fotos de células atípicas presentes en el líquido ascítico observadas en el microscopio óptico. Elaboración propia.



**Figura 4.** Canibalismo de células neoplásicas presentes en el líquido ascítico. Observación al microscopio óptico. Elaboración propia.

### 3.3. Marcadores tumorales:

A la vista de los resultados del estudio citológico se decide analizar varios marcadores tumorales en suero. Los resultados se recogen en la siguiente tabla (Tabla 4).

PRUEBA	RESULTADO	INTERVALOS DE REFERENCIA
CEA (ng/mL)	2,40	0,00 – 80,00
Ca 125 (U/mL)	1408,00	0,00 – 35,00
Ca 19.9 (U/mL)	10,60	0,00 – 34,00
Ca 72.4 (U/mL)	1855,00	0,00 – 6,90
CYFRA 21.1 (ng/mL)	14,80	0,00 – 3,30
SCC (ng/mL)	0,6	0,00 – 2,5

**Tabla 4.** Resultados de marcadores tumorales obtenidos en suero. Elaboración propia.

Destacan los elevados valores de Ca 125, Ca 72.4 y CYFRA 21.1.

El Ca 125 es un marcador específico de cáncer de ovario. Este marcador tumoral se encuentra elevado en el 50% de las pacientes con estadio I y en el 90% con estadio II, lo que ha provocado interés en su uso para la detección precoz del carcinoma de ovario.

El Ca 72.4 es un marcador gastrointestinal que se eleva en diversas patologías. En el carcinoma ovárico se describe una sensibilidad del 47-80% en los estadios III-IV, mientras que la misma sólo es del 10% para los estadios I-II, con mayor selectividad para el cáncer de tipo mucinoso, en comparación con el Ca 125. En combinación con el Ca 125 se obtiene un incremento aditivo de la sensibilidad para el diagnóstico.

El CYFRA 21.1 es un marcador de utilidad para el cáncer de pulmón de células no pequeñas y el carcinoma de células escamosas. Ha comenzado a adquirir cierta importancia en el cáncer invasivo muscular de la vejiga urinaria.

Es de gran utilidad seguir la evolución de los marcadores en el tiempo a través de determinaciones seriadas. En el caso de nuestra paciente, destacaba una elevación constante de los marcadores Ca 125 y el Ca 72.4.

Dichos hallazgos son sugestivos de carcinomatosis peritoneal. Los resultados de laboratorio junto con la exploración física obligan a descartar neoplasia ovárica como primera posibilidad, aunque se deben valorar otras posibilidades como carcinoma gástrico, colorrectal...

Para confirmar el origen se evalúan los resultados de las biopsias analizadas por anatomía patológica.

#### 3.4. Resultados de anatomía patológica:

El diagnóstico citológico del líquido fue positivo para células malignas, congruente con adenocarcinoma. Sin embargo, en el estudio inmunohistoquímico el diagnóstico fue adenocarcinoma con perfil inmunohistoquímico no concluyente para establecer origen.

Además, el informe histopatológico de las biopsias peritoneales confirmó la presencia de adenocarcinoma seroso.

#### 4. EVOLUCIÓN

La paciente acude a Urgencias en repetidas ocasiones por persistencia del dolor abdominal, hasta finalmente ser ingresada en diciembre del 2022 por suboclusión intestinal secundaria a carcinomatosis peritoneal y descompensación edemoascítica leve.

En la cita en hospital de día para administrar el 1º ciclo en diciembre, presentaba importante deterioro clínico y signos de obstrucción por lo que ingresó, desestimándose al alta iniciar tratamiento activo por fragilidad. Desde entonces seguimiento por ESAD (equipos de soporte de atención domiciliaria). Las dos primeras semanas presenta buena evolución, pero a partir de entonces muestra un deterioro progresivo con disnea, mayor encamamiento, somnolencia y lumbalgia intensa. La respuesta a rescates de Oramorph (sulfato de morfina) es escasa por lo que se valoran otras opciones de tratamiento.

En enero presenta un deterioro clínico fundamentalmente respiratorio, impresiona de multifactorial en el que probablemente predomine hipoventilación por obesidad (SHO) y elevación de diafragmas por aumento de la presión intraabdominal. Ante la situación de deterioro clínico que parece en este momento de difícil manejo adecuado en el domicilio, se inician durante el ingreso medidas de confort y se solicita traslado a la unidad de cuidados paliativos (UCP) el 18/1.

Durante los siguientes días la paciente presenta mala evolución, con aumento progresivo de la disnea, el dolor abdominal y aparición de signos de delirium, por lo que se anula el traslado a UCP y se intensifican las medidas de control sintomático.

El día 24/1 presenta como complicación vómitos fecaloideos intensos que no se consiguen controlar adecuadamente en las siguientes horas hasta la colocación de una sonda nasogástrica de descarga. Ante el deterioro general, sin conseguir un buen control sintomático en ningún momento, se consensua con los familiares sedar a la paciente, tras lo cual permanece tranquila. En esta situación fallece el 25/1.

Aunque en un principio no se tuvo claro el origen del carcinoma, finalmente se concluyó que se trataba de cáncer de ovario.

#### 5. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

Hoy en día la incidencia de cáncer de ovario en la población es relativamente baja, y su tratamiento localizado es curativo en el 90% de los casos, sin embargo, representa una causa importante de muerte por cáncer en las mujeres.

La supervivencia global del cáncer de ovario a los 5 años se sitúa en torno al 43,8% de los casos, y está directamente

relacionada con el estadio en el momento del diagnóstico. En estadio I, la supervivencia es del 90%, y en los estadios III y IV, se reduce al 25%. En más del 70% de los casos, el cáncer de ovario se diagnostica en estados avanzados (III, IV).

La sintomatología del cáncer de ovario en los primeros estadios de la enfermedad es muy inespecífica, predominando los síntomas gastrointestinales y urinarios, (encontrados tan comúnmente en muchas otras patologías), lo que complica altamente el diagnóstico.

Se han realizado varios estudios que demuestran que el cribado de cáncer de ovario en población general asintomática no ha demostrado reducción en la mortalidad. Pero, sin embargo, el cribado cuando existe sintomatología sí que ha resultado de utilidad. Por ello, en atención primaria se recomienda que en mujeres mayores de 50 años y con síntomas gastrointestinales y/o urinarios se solicite un Ca 125 y una ecografía abdominopélvica como parte del diagnóstico inicial.

El objetivo principal de los estudios en la actualidad es conseguir diagnosticar la enfermedad en un estadio temprano. Uno de los métodos propuestos consiste en analizar el patrón de las proteínas en la sangre (*proteómica*).

En el caso de nuestra paciente, gracias al análisis de la primera muestra de líquido ascítico por parte del laboratorio, cuando esta llegó a Urgencias, se consiguió llegar a un diagnóstico desde el primer momento. El mayor inconveniente fue el gran avance que presentaba dicha enfermedad.

La citología del líquido ascítico, y la correspondiente observación al microscopio óptico, son extremadamente valiosas en casos sospechosos de carcinomatosis

peritoneal, donde las células malignas que se derraman en el líquido pueden detectarse fácilmente.

Para completar el estudio por parte del laboratorio, la citología debe acompañarse del análisis de marcadores tumorales en suero y de la bioquímica del líquido y del suero.

## BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Runyon BA, Hoefs JC, Morgan T. Ascitic fluid analysis in malignancy-related ascites. *Hepatology* 1988; 8: 1104-1109.
- Bac, D. J., Siersema, P. D., & Wilson, J. H. Paracentesis. The importance of optimal ascitic fluid analysis. *The Netherlands Journal of Medicine*.1993; 43(3-4), 147-155.
- McHutchison, J. G. Differential diagnosis of ascites. *Seminars in liver disease*. 1997; Vol. 17, No. 03, 191-202.
- Martínez, E., Marcos, M., Domínguez, M. A., Arias, F., Villafranca, E., & Dueñas, M. T. Marcadores tumorales circulantes con valor pronóstico. 2000; *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*.Vol. 24, 53-61.
- Alcaide Martín, M. J., Queral, L. A., Frías, L. S., Valiña Amado, L., Merino, A., & García de Guadiana-Romualdo, L. El recuento automatizado de células en líquidos biológicos: una revisión. *Advances in Laboratory Medicine/Avances en Medicina de Laboratorio*. 2021; 2(2), 163-177.
- Carmen Vela Vallespín, Jesús López-Grado Padreny, Mercè Marzo-Castillejo. El cáncer de ovario, FMC. *Formación Médica Continuada en Atención Primaria*. 2014; Vol. 21. 4, 201-210.

## 26 - DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DEL SÍNDROME DE POEMS

**Autores:** Laura Carrasco Parrón, María de los Ángeles Iglesias de la Puente

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

**Palabras clave:** Síndrome de POEMS, Polineuropatía, Células plasmáticas.

### 1. INTRODUCCIÓN

El mieloma osteoesclerótico o síndrome de POEMS se describió por primera vez en 1938, pero hasta 1980 no surge el acrónimo "POEMS" para este trastorno, que representa la siguiente constelación de hallazgos: polineuropatía, organomegalia, endocrinopatía, proteína monoclonal y cambios en la piel.

Se caracteriza por la presencia de un trastorno de células plasmáticas monoclonales, neuropatía periférica y una o más de las siguientes características: mieloma osteoesclerótico, enfermedad de Castleman (hiperplasia de los ganglios linfáticos angiofolliculares), aumento de los niveles del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) sérico, organomegalia, endocrinopatía, edema, cambios cutáneos típicos y papiledema.

Se desconoce la causa del síndrome de POEMS, aunque la sobreproducción crónica de citocinas proinflamatorias y de otro tipo, por ejemplo, factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), parece ser una característica importante de este trastorno, produciendo microangiopatía, edema, derrames y aumento de la permeabilidad vascular, neovascularización, polineuropatía, hipertensión pulmonar, leucocitosis y trombocitosis como posibles ejemplos de su efecto.

Los pacientes suelen tener niveles más altos de interleucina-1 beta (IL-1 $\beta$ ), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e interleucina-6 (IL-6) que los pacientes con mieloma múltiple. Se ha postulado que las manifestaciones del síndrome de POEMS podrían considerarse como el resultado de una marcada activación de estas citoquinas asociada con una reacción antagonista de TGF- $\beta$ 1 débil o disminuida.

En cuanto a la epidemiología, se trata de un trastorno raro. Se desconoce la incidencia exacta debido a la complejidad de las manifestaciones clínicas que son multisistémicas. Se presenta comúnmente entre la quinta y la sexta década de la vida.

Las manifestaciones clínicas del síndrome de POEMS son múltiples y generalmente se desarrollan durante un período de semanas a meses. Se pueden clasificar en tres grupos: criterios obligatorios, criterios mayores y criterios menores. Por definición, todos los pacientes tienen neuropatía periférica y un trastorno de células plasmáticas monoclonales, casi siempre del tipo de cadena ligera lambda. Dentro de los criterios mayores, encontramos las lesiones óseas osteoescleróticas, más frecuentemente

localizadas en pelvis, columna vertebral, costillas y extremidades proximales; niveles elevados de VEGF en suero o plasma y/o enfermedad de Castleman.

En cuanto a las manifestaciones clínicas clasificadas como criterios menores, encontramos: anomalías endocrinas, cambios en la piel, organomegalia, sobrecarga de volumen vascular, características hematológicas y compromiso del Sistema Nervioso Central (SNC)/edema de papila.

### 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

#### 2.1. Motivo de consulta:

Paciente varón de 79 años que acude a Urgencias de nuestro hospital y es ingresado en Cardiología para valoración de hipertensión pulmonar, insuficiencia cardiaca y estenosis aórtica severa con hallazgos infiltrativos.

Además, presenta síndrome constitucional de 3 años de evolución, asociado a polineuropatía sensitivo motora confirmada en electromiografía en 2021, lesiones esclerodermiformes, adenopatías hipermetabólicas cervicales disponiendo de una biopsia no sugestiva de malignidad, y lesión ósea en mastoides y cóndilo occipital derecho.

En inmunofijación realizada en 2021 presenta una banda monoclonal  $\beta$ 2 de 0.24 g/dL con paraproteína IgM lambda.

#### 2.2. Antecedentes personales:

Entre los antecedentes personales, destacan:

- Hipertensión arterial, Diabetes Mellitus tipo 2 y dislipemia.
- Síndrome de apnea obstructiva del sueño con CPAP.
- Hipertensión pulmonar.

#### 2.3. Antecedentes familiares:

El paciente no presenta antecedentes familiares de interés.

#### 2.4. Enfermedad actual:

Debido al antecedente de hipertensión pulmonar, estenosis aórtica severa, así como un valor de NT-proBNP de 6800 pg/mL, ingresa para tratamiento depletivo y valorar intervención sobre la válvula aórtica.

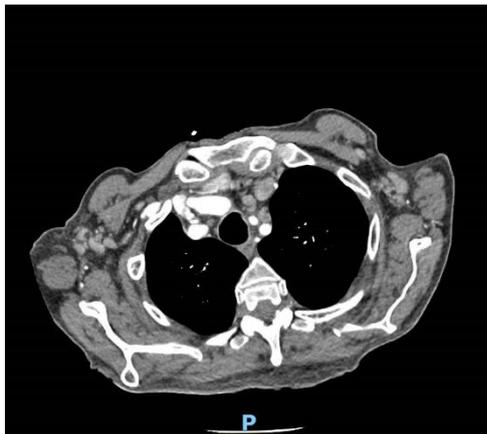
#### 2.5. Exploración física:

A la exploración, el paciente refiere parestesias, alteraciones en la sensibilidad y endurecimiento cutáneo, además de múltiples lesiones tipo hemangiomas.

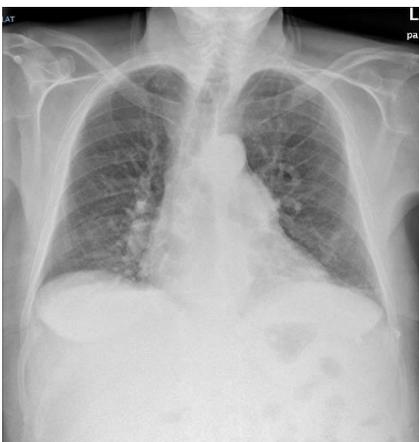


**Figura 2.** Resonancia magnética cardíaca con infiltración sugerente de amiloidosis cardíaca.

Se realiza resonancia magnética (RM) cardíaca (Figura 1) para despistaje de miocardiopatía hipertrófica (MHC), en la que se observan datos de infiltración sugerente de amiloidosis cardíaca, descartando transtirretina (TTR) mediante gammagrafía con pirofosfatos.



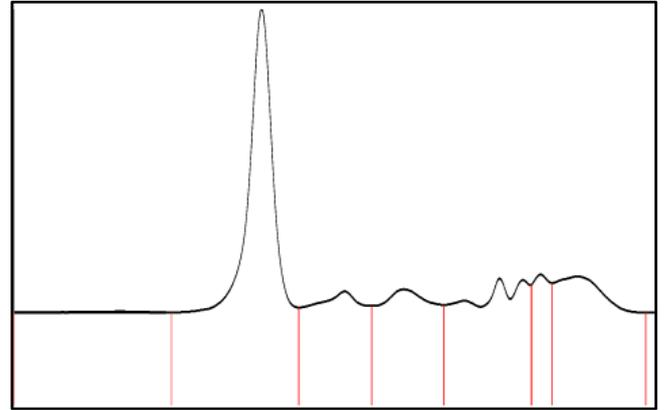
**Figura 1.** TC body en el que se observan adenopatías axilares y mediastínicas



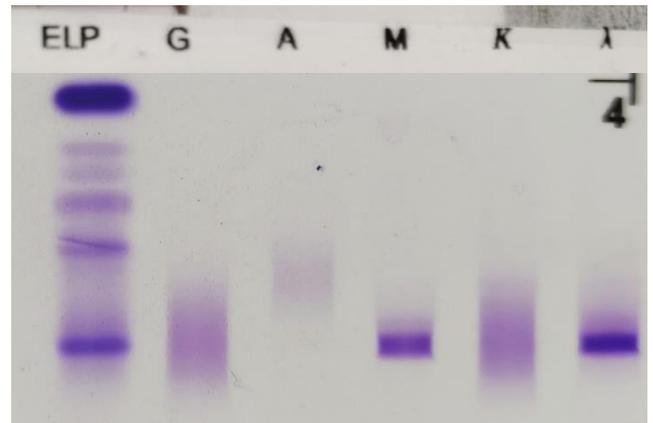
**Figura 3.** Radiografía de tórax. Parénquima pulmonar con atelectasia subsegmentaria

Se realiza también un PET/TC de cuerpo completo (Figura 2), en el que llama la atención la existencia de múltiples adenopatías mediastínicas de tamaño significativo y en ambas regiones axilares, indeterminadas.

Por último, se realiza una radiografía de tórax (Figura 3), destacando la presencia de atelectasia subsegmentaria basal bilateral en parénquima pulmonar.



**Figura 4.** Perfil electroforético con banda en la región  $\beta 2$ .



**Figura 5.** Inmunofijación en la que se observa paraproteína IgM lambda.

### 3. INFORME DEL LABORATORIO

Al ingreso en el Servicio de Cardiología, dada la historia clínica que el paciente portaba del otro hospital, se solicitan electroforesis e inmunofijación de suero.

En la electroforesis se observa una banda monoclonal en  $\beta 2$  de 0,35 g/dL (Figura 4) y en la inmunofijación, la precipitación de paraproteína IgM lambda (Figura 5).

#### 4. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

Ante la posibilidad de amiloidosis, junto con los demás signos y síntomas clínicos que presentaba el paciente, se decide consultar a otros servicios.

- Se consulta al Servicio de Reumatología ya que el paciente refiere, además de parestesias, alteraciones en la sensibilidad y endurecimiento cutáneo en miembros inferiores, con aparición de úlceras en los últimos meses. Solicitan pruebas de autoinmunidad las cuales son negativas, por lo que podría tratarse de una afectación esclerodermiforme.
- Desde el Servicio de Medicina Interna solicitan inmunofijación de orina, estudio de endocrinopatías, VEGF, serologías, PET-TC e IGRA. Además, realizan punción-aspiración de tejido graso subcutáneo para estudio de amiloide. El análisis de VEGF arroja un valor de 321 pg/mL (valor normal hasta 128,9 pg/mL) y en la inmunofijación de orina, presenta Bence Jones Lambda.
- Se consulta al Servicio de Dermatología por las múltiples lesiones tipo hemangiomas que presenta el paciente distribuidas por tronco, miembros superiores y polo cefálico y por la hiperpigmentación cutánea difusa generalizada.
- El Servicio de Hematología solicita biopsia de médula ósea donde presenta una pequeña población linfoide B de monoclonalidad lambda.

#### 5. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

En resumen, las manifestaciones clínicas que presenta el paciente son las siguientes:

- Polineuropatía.
- Componente monoclonal IgM lambda.
- Adenopatías.
- Aumento de VEGF.
- Lesiones óseas.
- Afectación esclerodermiforme, hemangiomas e hiperpigmentación.

Como se ha comentado anteriormente, las manifestaciones clínicas del síndrome de POEMS se clasifican en criterios obligatorios, mayores y menores. Prestando atención a las características clínicas de nuestro paciente, podemos comprobar cómo cumple los dos criterios obligatorios (polineuropatía y componente monoclonal IgM lambda) y, además, presenta 3 criterios mayores (adenopatías o síndrome de Castleman, VEGF elevado y lesiones óseas) y las lesiones dérmicas como criterio menor.

Por tanto, el paciente recibió el diagnóstico definitivo de mieloma osteosclerótico o síndrome de POEMS.

#### 6. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Para el diagnóstico diferencial, en primer lugar, se descartó

la amiloidosis primaria como causa de la estenosis aórtica. La amiloidosis primaria (AL) es un trastorno de las células plasmáticas que a menudo se asocia con gammapatía monoclonal, lesiones cutáneas y polineuropatía. El diagnóstico de amiloidosis AL se realiza mediante la biopsia de un tejido afectado (aspirado o biopsia de grasa, médula ósea, tracto gastrointestinal, riñón, corazón, nervio sural) que muestra la presencia de fibrillas de amiloide típicas, que no se observan en pacientes con síndrome de POEMS.

También se propusieron otras entidades como mieloma múltiple, plasmocitoma óseo solitario, gammapatía de significado incierto, macroglobulinemia de Waldenström, crioglobulinemia y polirradiculopatía desmielinizante inflamatoria crónica (PDIC).

En el mieloma múltiple (MM) clásico la polineuropatía es poco común y, cuando está presente, generalmente se debe a la presencia de amiloidosis. Las características sugestivas de MM incluyen la presencia de lesiones óseas osteolíticas pero sin cambios escleróticos, con anemia, hipercalcemia, insuficiencia renal, fracturas patológicas y un alto porcentaje de células plasmáticas en la médula ósea. En casos raros, el MM puede estar asociado con la presencia de enfermedad ósea osteoesclerótica difusa en áreas de hematopoyesis activa, diferente de las lesiones escleróticas focales que se observan en POEMS.

En cuanto al plasmocitoma óseo solitario, en general, los pacientes suelen tener una sola lesión ósea osteolítica, mientras que en el síndrome de POEMS las lesiones óseas con osteoescleróticas. En ambos trastornos la biopsia de la lesión ósea muestra infiltración con células plasmáticas monoclonales.

La gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI) se asocia clásicamente con un trastorno de células plasmáticas en ausencia de otros hallazgos sistémicos. La polineuropatía se puede observar en pacientes con GMSI, a menudo asociada con un anticuerpo reactivo contra antígenos neurales.

La macroglobulinemia de Waldenström (MW) es un linfoma linfoplasmocitario con la presencia adicional de una gammapatía monoclonal IgM y puede complicarse con una polineuropatía. En pacientes con WM hay infiltración de la médula ósea y/o de los ganglios linfáticos con células linfoplasmocíticas anormales.

La crioglobulinemia mixta (tipo II) puede estar asociada con neuropatía periférica y la presencia de una gammapatía monoclonal. Con mayor frecuencia se asocia con un linfoma subyacente, una infección viral (por ejemplo, virus de la hepatitis C, VIH) o un estado inflamatorio crónico, como una enfermedad del tejido conjuntivo. El diagnóstico se basa principalmente en la demostración de laboratorio de crioglobulinas séricas en asociación con signos y síntomas clínicos característicos.

Por último, tanto la PDIC como el síndrome de POEMS se caracterizan por una polirradiculoneuropatía desmielinizante dominante motora subaguda. El estudio de conducción nerviosa y la electromiografía pueden distinguir eficazmente el síndrome de POEMS de la PDIC. En comparación con la PDIC, POEMS demuestra una mayor pérdida axonal (reducción de las amplitudes motoras y aumento de los

potenciales de fibrilación), una mayor ralentización de los segmentos nerviosos intermedios, una dispersión temporal y un bloqueo de la conducción menos frecuentes, y ausencia de preservación sural.

## 7. EVOLUCIÓN

Tras establecer el diagnóstico definitivo, el paciente comenzó tratamiento con lenalidomida-dexametasona en ciclos de 28 días. Actualmente, se encuentra en el séptimo ciclo, estable clínicamente y con aceptable estado general.

## 8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

No existe un tratamiento estándar para el síndrome de POEMS y no existen ensayos clínicos controlados aleatorizados de tratamiento en la literatura disponible.

En general, el modo de tratamiento se basa en si el paciente tiene lesiones óseas escleróticas limitadas o generalizadas. La radioterapia (RT) se emplea para aquellos con enfermedad limitada (por ejemplo, de una a tres lesiones óseas aisladas), mientras que se recomienda una terapia similar a la utilizada para el mieloma múltiple para aquellos con lesiones óseas generalizadas.

Los pacientes con lesiones osteoescleróticas generalizadas o evidencia de afectación de la médula ósea en el aspirado y la biopsia de la médula ósea se tratan con quimioterapia, con o sin trasplante autólogo de precursores hematopoyéticos, similar a la utilizada para el tratamiento del mieloma múltiple.

La quimioterapia sistémica es la opción de tratamiento preferida para los pacientes con síndrome de POEMS con lesiones osteoescleróticas generalizadas o afectación de la médula ósea. Los regímenes siguen el modelo de los utilizados en otras discrasias de células plasmáticas e incluyen: bortezomib o lenalidomida. Generalmente se emplean los regímenes: bortezomib, ciclofosfamida y dexametasona; lenalidomida y dexametasona.

El trasplante autólogo de células hematopoyéticas después de una dosis alta de melfalán es una alternativa importante para los pacientes más jóvenes con lesiones osteoescleróticas múltiples.

Los objetivos del tratamiento son dos: estabilizar o revertir la disfunción orgánica y eliminar o inactivar las células plasmáticas clonales. Los criterios de respuesta ideales evaluarían la respuesta orgánica y la respuesta hematológica.

El seguimiento del tratamiento se lleva a cabo mediante la evaluación de los niveles de paraproteína sérica mensual

durante la terapia y evaluación de respuesta completa de 3 a 6 meses tras el inicio de la terapia.

La respuesta al tratamiento se determina mediante:

- Electroforesis de suero y orina de 24h más inmunofijación de ambas. Se considera respuesta hematológica completa con médula ósea e inmunofijaciones negativas.
- PET-FDG (fluorodeoxiglucosa) de cuerpo entero. Respuesta radiológica completa si desaparece la avidéz inicial por la FDG en el PET.
- Hemograma completo.
- Niveles de VEGF. Respuesta completa si valor de VEGF <87 pg/mL.

## BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Abe D, Nakaseko C, Takeuchi M, et al. Restrictive usage of monoclonal immunoglobulin lambda light chain germline in POEMS syndrome. *Blood* 2008; 112:836.
- Bardwick PA, Zvaifler NJ, Gill GN, et al. Plasma cell dyscrasia with polyneuropathy, organomegaly, endocrinopathy, M protein, and skin changes: the POEMS syndrome. Report on two cases and a review of the literature. *Medicine (Baltimore)* 1980; 59:311.
- Dispenzieri A, Kyle RA, Lacy MQ, Rajkumar SV, Therneau TM, Larson DR, et al. POEMS syndrome: Definitions and long-term outcome. *Blood*. 2003;101:2496.
- D'Souza A, Hayman SR, Buadi F, et al. The utility of plasma vascular endothelial growth factor levels in the diagnosis and follow-up of patients with POEMS syndrome. *Blood* 2011; 118:4663.
- Gherardi RK, Bélec L, Soubrier M, et al. Overproduction of proinflammatory cytokines imbalanced by their antagonists in POEMS syndrome. *Blood* 1996; 87:1458.
- Morán Blanco LM, Encinas Rodríguez C. Mieloma múltiple con osteosclerosis difusa, diferente al síndrome de POEMS. *Radiología*. 2014;56(6):29–33.
- Scarlato M, Previtali SC, Carpo M, et al. Polyneuropathy in POEMS syndrome: role of angiogenic factors in the pathogenesis. *Brain* 2005; 128:1911.
- Sung JY, Kuwabara S, Ogawara K, et al. Patterns of nerve conduction abnormalities in POEMS syndrome. *Muscle Nerve* 2002; 26:189.

## 27 - EOSINOFILIA EN FROTIS DE SANGRE PERIFÉRICA, ATIPIAS MORFOLÓGICAS DE DUDOSA CONSIDERACIÓN

**Autores:** Esther Parra Virto, Reyes Mas Rubio, Sandra Gómez Rojas.

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

**Palabras clave:** Eosinofilia, Frotis, Clonalidad.

### 1. INTRODUCCIÓN

La proporción de eosinófilos en sangre periférica no es constante y guarda relación con la edad, el sexo o el ciclo circadiano. La eosinofilia es frecuentemente detectada como un hallazgo incidental en pacientes asintomáticos, si bien en ocasiones pueden acusar diferente sintomatología: pérdida de peso, fiebre, sudoración nocturna, astenia, tos, angioedema, mialgias, prurito y diarrea, neuropatía, clínica derivada de fibrosis endomiocárdica, neuropatía, síntomas pulmonares o reumatológicos entre otros.

Hay ciertas consideraciones que nos deben llevar a un estudio más minucioso, pudiendo distinguir diferentes escenarios<sup>1</sup>:

- Eosinofilia: recuentos superiores a 500 hasta 1.500/uL. Presente en el 3-10% población
- Hipereosinofilia: eosinófilos en sangre periférica >1.500/uL en 2 muestras en un mes, siendo este umbral a partir del cual hay un incremento notable del riesgo de daño orgánico. Puede darse afectación tisular, siendo esta limitada a una localización.
- Síndrome eosinofílico: incidencia difícil de estimar, en la que existe una sobreproducción mantenida de eosinófilos, en los que la propia infiltración y la liberación de mediadores (IL-1, IL 5 y FCGM) causan daño orgánico siendo los principales afectados: cutáneo 58%, cardíaco 56%, neurológico 54%, pulmonar 49% y bazo 43%. Como criterios diagnósticos aparecen eosinofilia en sangre periférica  $\geq 1500/uL$ , durante más de 6 meses habiendo descartado otras causas y asociando signos o síntomas de compromiso orgánico. Se trata por tanto de un diagnóstico de exclusión, en el que los eosinófilos son policlonales siendo posible, sin embargo, que incluya casos de leucemia eosinofílica no reconocibles con los criterios actuales o bien casos de eosinofilia inducidos por disregulación de los factores de crecimiento (IL2, IL3 e IL5). La IL-5 ha sido identificada como la citocina más específica de eosinófilos, dirigiendo el desarrollo de los precursores en el linaje de los eosinófilos, estimulando su liberación a sangre periférica y en interrelación con otros factores quimiotácticos de eosinófilos.<sup>2,3,4</sup>

De cara a diagnóstico etiológico, una historia detallada, la exploración física, el hemograma y un examen del frotis de sangre son esenciales. Como causas más frecuentes de eosinofilia reactiva encontramos<sup>1</sup>:

- Procesos alérgicos: asma, rinitis alérgica, dermatitis atópica, aspergilosis bronco-pulmonar alérgica, secundaria a fármacos (penicilinas, cefalosporinas, omeprazol...a considerar el síndrome DRESS por su gravedad), síndrome de mialgia-eosinofilia...
- Pulmonares: eosinofilia pulmonar, síndrome de Löeffler, vasculitis granulomatosas, neumonía eosinofílica...
- Cutáneos: urticaria aguda, pénfigo vulgar, penfigoide ampoloso, herpes gestacional...
- Intestinales: enfermedad inflamatoria intestinal, gastroenteritis eosinofílica, infestación por Anisakis, helmintiasis...
- Neoplasias: carcinomas, de causa hematológica más adelante comentadas.
- Condiciones reumatológicas: colagenosis, vasculitis, artritis reumatoide, lupus...
- Infeccioso: helmintiasis, fasciolosis, equinococosis, triquinosis, helmintiasis tropicales...
- Otras: insuficiencia suprarrenal, algunas inmunodeficiencias, émbolos de colesterol, Idiopática o de causa desconocida tras estudio completo.

En base a estas posibilidades se completa estudio con bioquímica (que incluya perfil hepático, renal, muscular), estudio de orina y copro-parasitario, radiografía de tórax, estudio serológico, perfil de autoinmunidad, triptasa, y en base a la sospecha estudio endoscópico, toma de biopsias... Una vez descartadas causas secundarias, se deben valorar otras entidades, a destacar las hematológicas, en las cuales la eosinofilia puede acompañar a un proceso neoplásico subyacente o bien presentando los eosinófilos mismos una naturaleza clonal. Distinguiamos dos grupos:<sup>5,6,7</sup>

- Eosinofilia acompañante como proceso reactivo: frecuente en síndromes linfoproliferativos (a destacar el linfoma de Hodgkin y en alrededor del 5% de linfoma no Hodgkin de células B) mastocitosis, leucemia linfoblástica aguda (LLA-B t(5;14); IGH/IL3) o en el síndrome hipereosinofílico variante linfoide (eosinofilia secundaria a liberación de citoquinas por LT aberrantes, en estos es frecuente el compromiso cutáneo, y raro el daño cardíaco).
- Eosinofilia clonal primaria: en leucemia mieloide crónica atípica, leucemia mielomonocítica con eosinofilia, leucemia linfoblástica, mastocitosis, neoplasias mieloides o linfoides con reordenamientos

de PDGFRA, PDGFRB, FGFR1 o PCM1-JAK2, ETV6-JAK2, BCR-JAK2 o la leucemia eosinofílica crónica NOS (no especificada de otra manera). Tomando esta última como referencia, encontramos típicamente en frotis de sangre periférica elementos maduros, si bien pueden encontrarse mielocitos y promielocitos eosinófilos. Son frecuentes las alteraciones en la granulación de los eosinófilos, la vacuolización citoplasmática, la hipersegmentación o el aumento del tamaño celular. Estas mismas alteraciones morfológicas pueden encontrarse en eosinofilia reactivas, aunque en estas los eosinófilos suelen ser más frecuentemente normales. La visualización de displasia asociada en otras líneas mieloides o aparición de neutrofilia, basofilia o monocitosis acompañante apoyan el diagnóstico de leucemia eosinofílica crónica en la que se pueden observar blastos pero con recuento <20%.<sup>8</sup>

## 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

### 2.1. Motivo de consulta:

Paciente mujer de 42 años que acude al servicio de urgencias hospitalarias por 2 meses de dolor lumbar, con irradiación hacia ambos miembros inferiores, progresivamente más intenso y que asocia pérdida de peso de unos 15 kg y sudoración profusa nocturna. Afebril y niega prurito.

### 2.2. Antecedentes personales:

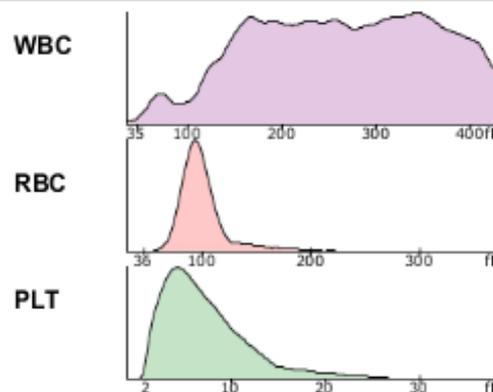
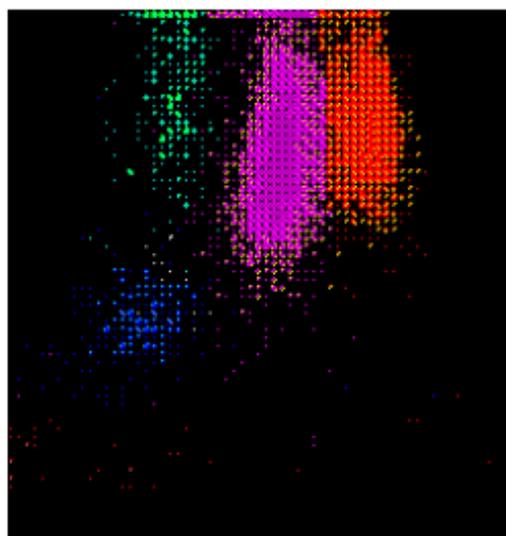
- Alergia a b-lactámicos (con posible reacción anafiláctica a amoxicilina en 2018).
- Consumo ocasional de alcohol, haciendo consumido en pasado cocaína, metanfetamina, éxtasis, LSD y cannabis y tabaco con IPA 3.
- Rinoconjuntivitis estacional y asma bronquial por alergia a pólenes.
- Como antecedentes quirúrgicos una apendicectomía en 2012 y una cesárea en 2021.
- Sin tratamiento de forma habitual.

### 2.3. Exploración física:

A su llegada a la exploración física destaca la palpación de una adenopatía axilar inferior a 1 cm.

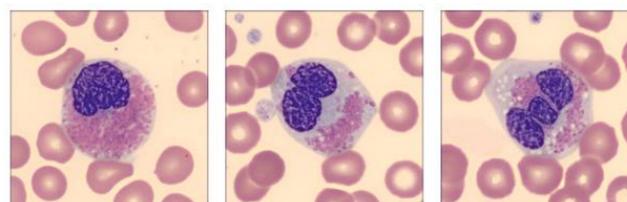
## 3. INFORME DEL LABORATORIO

- Hemograma: Hemoglobina 10,4 g/dl, VCM 84,4 fL, Plaquetas 288 x1000/μL, Leucocitos 16,1 x1000/μL, Neutrófilos 9,2 x1000/μL, Linfocitos 0,4 x1000/μL, Eosinófilos 6,2 x1000/μL.
- Bioquímica: Proteína C Reactiva 14,10 mg/dL, B2 microglobulina: 1,9. Perfiles hepático y renal normales.
- Coagulación sin alteraciones, salvo dímero-D aumentado como reactante de fase.



**Figura 3.** Representación de las poblaciones celulares, según tamaño y complejidad. Nótese la eosinofilia representada en naranja. Grafica sugestiva de activación celular. Elaboración propia.

En un frotis de sangre periférica se observa una serie roja sin alteraciones, se confirma la eosinofilia con algunos de ellos con granulación polarizada. Se observa mieleemia, linfocitos sin atipias y plaquetas sin alteraciones. Figuras 2 y



**Figura 2.** Marcadas atipias morfológicas en eosinófilos que muestran alteraciones de la segmentación nuclear, tendente a la hiposegmentación, granulación polarizada y frecuentes vacuolas en citoplasma. Elaboración propia.

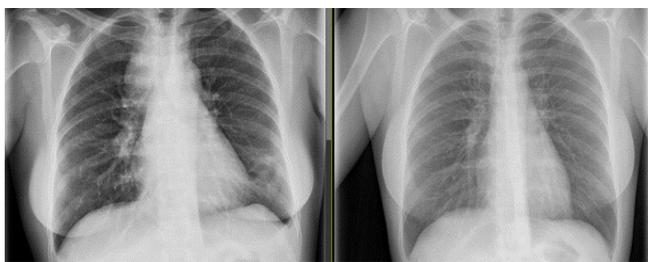
3.



**Figura 3.** Mielemia con presentación de formas inmaduras en extensión periférica. Formas activadas. Elaboración propia.

#### 4. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

Como pruebas complementarias se realiza una radiografía de tórax (Figura 4):



**Figura 4.** Radiografía de tórax de la paciente con ensanchamiento mediastínico, no presente en previas. Elaboración propia.

Se amplía estudio por imagen con una TAC body informado como: "Adenopatías supra e infrafragmáticas, posible proceso linfoproliferativo. Lesiones nodulares inespecíficas en lóbulo medio derecho y lóbulo inferior derecho. Derrame pleural posterobasal izquierdo en escasa cuantía con discreta alteración inespecífica de la trabeculación ósea de los cuerpos vertebrales T2 y L2. No se descarta la posibilidad de afectación ósea por proceso linfoproliferativo".

En cuanto al estudio analítico resultan negativos el perfil de autoinmunidad, las serologías y cargas virales, prueba de

tuberculina, perfil carencial y de proteínas, así como estudio de parásitos.

#### 5. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Se decide entonces estudio anatómo-patológico de la adenopatía supraclavicular, con el siguiente informe: "proliferación celular de patrón difuso e interfolicular, células grandes atípicas, con alta relación núcleo-citoplasmática, mono-, bi- y multinucleadas, con cromatina fina, nucleolo eosinófilo prominente y con citoplasma anfófilo (células de Reed-Sternberg y variantes), que se disponen de forma dispersa. Estas células asientan sobre un fondo inflamatorio compuesto por abundantes linfocitos pequeños, frecuentes histiocitos, células plasmáticas de aspecto maduro, eosinófilos y neutrófilos. Figura 5.

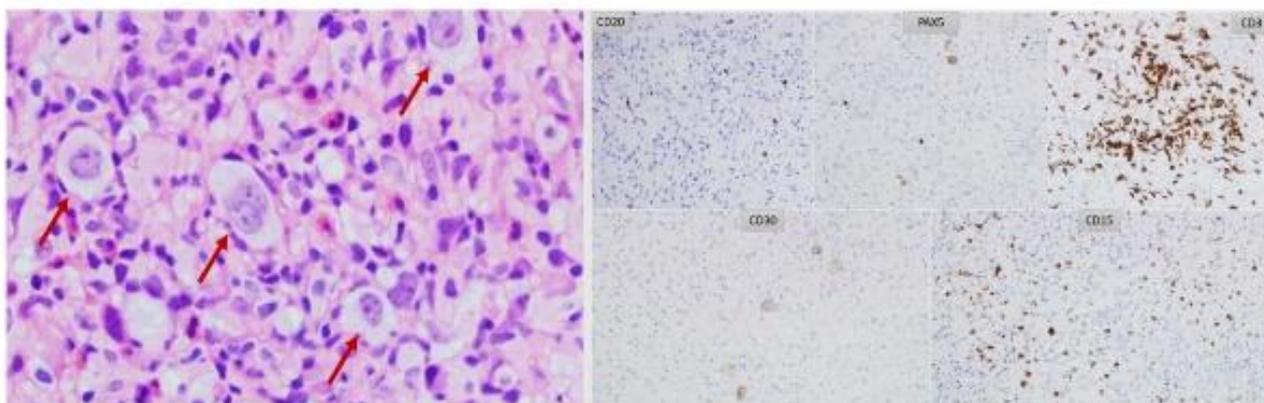
Respecto al estudio inmunohistoquímico las células neoplásicas son de fenotipo B (PAX5+) y expresan CD30 y MUM1. Todos estos hallazgos, resultan compatibles con Linfoma de Hodgkin clásico.

#### 6. EVOLUCIÓN

En base al diagnóstico, la paciente completa el estudio con PET TAC, se realiza pruebas de función respiratoria y ecocardiograma, iniciando quimioterapia con esquema habitual modificado (brentuximab, adriamicina, vinblastina y dacarbazina) debido a difusión de monóxido de carbón disminuido que imposibilita inclusión de bleomicina.

#### 7. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

Incluidas en el grupo de eosinofilia reactiva, destacamos el linfoma de Hodgkin, que puede asociar un síndrome hipereosinofílico como síndrome paraneoplásico en aproximadamente un 15% de los casos. En estos casos, es más común en el subtipo de esclerosis nodular y se ha correlacionado con la expresión de IL-5 mRNA por células Reed-Sternberg.



**Figura 5.** Estudio anatómo-patológico: células de Reed-Sternberg. Estudio inmunohistoquímico, con expresión de PAX5, CD30 y MUM1. Elaboración propia.

Esta neoplasia, con incidencia estimada de 2,6 casos por cada 100.000 personas, es algo más frecuente en varones (con una relación de 1,1-1,4:1) y con presentación bimodal: entre la segunda y tercera década de la vida, y aproximadamente a los 60 años. Respecto a factores de riesgo conocidos, encontramos la infección por Epstein-Barr (más frecuente en subtipos de celularidad mixta y depleción de linfocitos) enfermedades autoinmunes, inmunosupresión, incluso predisposición familiar.

Respecto a los subtipos, encontramos dos:

- El linfoma Hodgkin clásico, que se da en el 95% de los casos y que a su vez se subdivide en: esclerosis nodular (70%, más común en adultos jóvenes con patrón de crecimiento parcialmente nodular, bandas fibrosas y frecuentes células lacunares), rico en linfocitos (5%, con patrón histológico nodular), celularidad mixta (25%, más en adultos mayores) y depleción de linfocitos (menos de 1%).
- Linfoma Hodgkin con predominio de linfocitos nodulares, con arquitectura nodular con un fondo de linfocitos B pequeños, células dendríticas foliculares, linfocitos T foliculares, escasas células de Reed-Sternberg abundantes en otros tipos y frecuentes “células en palomita de maíz”.

Clínicamente puede debutar como linfadenopatía supradiaphragmática indolora, síntomas B hasta en el 30% de los pacientes (más comunes en estadios avanzados, celularidad mixta y subtipos con depleción de linfocitos). Más infrecuentemente, puede aparecer dolor en los ganglios linfáticos tras consumo de alcohol, prurito o clínica derivada del efecto masa.<sup>9</sup>

El diagnóstico definitivo es histológico; la mayor parte de esta neoplasia está constituida por un infiltrado de células inflamatorias y fibrosis, mientras que las células malignas, representan sólo del 0.1% al 10% de la población celular. Para establecer el diagnóstico se precisa la identificación de las llamadas células de Reed-Sternberg (célula grande multinucleada con dos núcleos de imagen especular en ojos de búho, positivas para CD30, CD15, PAX5, CD25, HLA-DR, ICAM-1, Fascin, CD95 (apo-1/fas), TRAF1, CD40 y CD86 y negativas para CD20 y CD45 (positivas en predominio linfocítico nodular)) o “células en palomita de maíz” (con núcleo multilobulado plegado, positivas para CD20, CD45, EMA, CD79a, CD75, BCL6, BOB.1, OCT2).<sup>10</sup>

Esta neoplasia, presenta un excelente pronóstico general con una tasa de curación de aproximadamente el 80 %. En cuanto al tratamiento, frecuentemente se inicia con quimioterapia tipo ABVD (doxorubicina, bleomicina, vinblastina y dacarbazina), con número variable de ciclos, seguidos de radioterapia restringida del campo involucrado. La refractariedad a tratamiento de primera línea se estima en un 10% de los pacientes y hasta el 30 % recaerán, precisando segunda línea seguida de altas dosis de quimioterapia, y trasplante autólogo de progenitores.<sup>11</sup>

## 8. CONCLUSIONES

En cuanto al diagnóstico etiológico de eosinofilia, se incluye un amplio abanico de posibilidades: resulta de vital importancia la consideración de la clínica acompañante y las pruebas complementarias. La extensión de sangre periférica es uno de los estudios básicos a llevar a cabo en este contexto (sobre todo si el recuento superior a 1.500/ $\mu$ L, con un mayor riesgo de daño orgánico asociado). Una morfología normal es el hallazgo más habitual en eosinofilia de causa reactiva, si bien no es infrecuente la aparición de atipias morfológicas (alteraciones en la granulación de los eosinófilos, la vacuolización citoplasmática, la hipersegmentación o el aumento del tamaño celular. Pueden acompañarse de elementos inmaduros como mielocitos y promielocitos eosinófilos).

Nuestro caso clínico descrito, encuadrado en eosinofilia asociada a linfoma de Hodgkin y por tanto de perfil inflamatorio, presenta marcadas alteraciones morfológicas que nos pueden orientar a un diagnóstico erróneo de clonalidad en eosinófilos resultando, por tanto, esencial la integración de todos los estudios para un diagnóstico certero. Por tanto, se insiste en la cautela a la hora de interpretación de frotis de sangre periférica en estos casos, ya que no se puede descartar con seguridad un origen reactivo de la misma, y a la espera de completar estudio.

## BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. Uribe Posada A, Sánchez Calderón M. Enfoque diagnóstico y terapéutico de la eosinofilia: A propósito de un caso. *Pediatr Aten Primaria*. 2014 ;16(61):39–43.
2. Simon D, Braathen LR, Simon H-U. Anti-interleukin-5 antibody therapy in eosinophilic diseases. *Pathobiology*. 2005;72(6):287–92.
3. Butt NM, Lambert J, Ali S, Beer PA, Cross NCP, Duncombe A, et al. Guideline for the investigation and management of eosinophilia. *Br J Haematol*. 2017;176(4):553–72.
4. Andersen CL, Siersma VD, Hasselbalch HC, Lindegaard H, Vestergaard H, Felding P, et al. Eosinophilia in routine blood samples and the subsequent risk of hematological malignancies and death. *Am J Hematol*. 2013;88(10):843–7.
5. Dunn JLM, Rothenberg ME. 2021 year in review: Spotlight on eosinophils. *J Allergy Clin Immunol*. 2022;149(2):517–24.
6. Fulkerson PC, Rothenberg ME. Eosinophil development, disease involvement, and therapeutic suppression. *Alt F*, editor. *Adv Immunol*. 2018;138:1–34.
7. Furuta GT, Atkins FD, Lee NA, Lee JJ. Changing roles of eosinophils in health and disease. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2014;113(1):3–8.
8. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL. *Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*, Revised 4th ed. Vol. 2. France: IARC Press; 2017
9. González-Paredes YJ, Arreguín-González FE, Salamanca-García M, Páez-Aguirre SF. Linfoma de

- Hodgkin, síndrome hipereosinofílico e insuficiencia renal: presentación de caso clínico. *Gac Mex Oncol.* 2014; 13(1):77–81.
10. Kaseb H, Babiker HM. Hodgkin Lymphoma. *StatPearls Publishing*; 2022
  11. Hoppe RT, Advani RH, Ai WZ, Ambinder RF, Armand P, Bello CM, et al. NCCN guidelines® insights: Hodgkin lymphoma, version 2.2022: Featured updates to the NCCN Guidelines. *J Natl Compr Canc Netw.* 2022;20(4):322–34.

## 28 - ERITROCITOSIS CONGÉNITA: A PROPÓSITO DE UN CASO

**Autor:** Rodrigo Gil Manso, Gonzalo Carreño Gómez-Tarragona.

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

**Palabras clave:** Poliglobulia, Congénita, Secuenciación Masiva.

### 1. INTRODUCCIÓN

El término eritrocitosis, también referible como poliglobulia o policitemia (aunque este suele reservarse para las causadas por neoplasias mieloproliferativas crónicas (NMPc) se emplea para definir el aumento de la masa de glóbulos rojos circulantes, o por simplificación (debido a la dificultad logística de medir lo previo), el aumento del hematocrito (Hto) o los niveles de hemoglobina (Hb):

- Hb > 16,5 g/dl en hombres o > 16 g/dl en mujeres.
- Hto > 49 % en hombres o > 48 % en mujeres.

En primer lugar, a la hora de evaluar a un paciente con poliglobulia es fundamental descartar que no se trate de una poliglobulia espúrea o relativa, es decir, debida no al aumento de los eritrocitos sino debido a una depleción del volumen plasmático circulante, como puede ocurrir en la toma crónica de diuréticos, el síndrome emético o la diarrea. Por tanto, lo primero a comprobar será que el estudio se ha realizado en situación de euvolemia.

A la hora de evaluar las situaciones de eritrocitosis verdadera debemos dirigir la historia clínica a descartar las causas más frecuentes de poliglobulia, como son las causas adquiridas, tanto primarias como secundarias. Definimos una poliglobulia como primaria cuando esta no depende de la hormona estimulante de la eritropoyesis, la eritropoyetina (EPO) y por tanto sus niveles se encuentran descendidos, mientras que las formas secundarias presentan niveles elevados o anormalmente normales de EPO.

Dentro de las causas secundarias, las más frecuentes a nivel global, resaltan (ver apartado diagnóstico diferencial) las causas ambientales (vivir en altitud), pulmonares y renales, siendo fácilmente detectables mediante una correcta anamnesis y un estudio básico (analítica de sangre, radiografía de tórax y ecografía de abdomen).

Con el término de poliglobulias primarias adquiridas nos referimos fundamentalmente a la policitemia vera (PV), una de las principales formas de neoplasia mieloproliferativa crónica (suele asociar además leucocitosis y trombocitosis) y relativamente fácil de diagnosticar mediante la conjunción de resultados analíticos y estudios de biología molecular, pues el 95% de los casos asocian la mutación V617F en el gen *JAK2*, mientras que prácticamente el 5% restante presenta otras mutaciones en el exón 12 de *JAK2* (generalmente estas formas se presentan únicamente con eritrocitosis). Una historia clínica de síndrome constitucional, hemorragias/trombosis, clínica microvascular (eritromelalgia, parestesias) o hiperviscosidad (cefalea,

plétora facial) son características de estas formas de poliglobulia.

Aunque estos dos tipos de poliglobulias agrupan la gran mayoría de los casos de eritrocitosis, se encuentra reconocido que existen casos de poliglobulia “etiquetados” como idiopáticos y en los cuales hasta épocas recientes no podía llegarse a un diagnóstico definitivo. En una parte de estos casos las poliglobulias son crónicas, muchas de ellas congénitas y presentan agregación familiar.

El desarrollo de técnicas de estudio genético, especialmente las técnicas de secuenciación masiva de nueva generación (NGS), ha permitido caracterizar muchos de estos casos de poliglobulias congénitas, tanto primarias como secundarias, profundizar en el conocimiento de la fisiología de la eritropoyesis y dar una respuesta etiológica a muchos de estos pacientes, como veremos a continuación.

### 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

#### 2.1. Motivo de consulta:

Varón de 70 años derivado desde Neumología por poliglobulia de años de evolución (al menos desde 2016), con requerimientos previos de flebotomías.

#### 2.2. Antecedentes personales:

Entre los antecedentes personales, destacan:

- Síndrome de apnea-hipopnea del sueño (SAHS) leve, en seguimiento por Neumología, sin repercusión oximétrica y previamente tratado por las noches con CPAP (retirada por mala tolerancia y mejoría con medidas higiénicas).
- Dislipemia en tratamiento con simvastatina.
- Exfumador desde hace 10 años; índice paquetes/año acumulado de 10.

#### 2.3. Antecedentes familiares:

El paciente refiere que su padre se encontraba diagnosticado de poliglobulia no filiada y había presentado un ictus isquémico y su hijo se encuentra diagnosticado también de poliglobulia no filiada.

#### 2.4. Enfermedad actual:

El paciente es derivado desde Neumología por presentar poliglobulia de años de evolución, con cénit actualmente con Hto del 59,6% y Hb de 20,2 g/dl. El paciente presenta excelente estado general, niega cefalea frecuente, eritromelalgia, parestesias ni alteraciones de la visión. No refiere síndrome constitucional. Actualmente exfumador desde hace 10 años. Niega consumo de otros tóxicos.

Ha sido derivado desde Neumología porque su poliglobulia es conocida desde hace años y de hecho había sido tratada con realización de flebotomías previamente, y había sido achacada a su SAHS, que sin embargo presenta una mejoría marcada en los últimos años, sin asociar clínica ni hipoxemia; por lo cual muestra un curso evolutivo disociado del de la poliglobulia.

### 2.5. Exploración física:

El paciente presenta un excelente estado general, se mantiene hemodinámicamente estable, afebril y con saturación ambiente de O<sub>2</sub> del 96%.

No se palpan adenopatías en territorio cervical, axilar ni a otros niveles.

Auscultación cardiaca rítmica sin soplos, auscultación pulmonar con murmullo vesicular conservado.

Abdomen blando y depresible, no se palpan masas ni hepatoesplenomegalia.

Miembros inferiores con pulsos conservados, no datos de insuficiencia venosa ni signos de trombosis venosa profunda.

### 3. INFORME DEL LABORATORIO

La analítica básica con la que es derivado a Hematología incluye un hemograma y una bioquímica que se muestra a continuación:

- Hemograma: Hematíes 5,8 x10<sup>9</sup>/μL; Hb 20,2 g/dL; Hto. 59,6%; VCM 102,7 fL; HCM 34,8 pg; CHCM 33,9 g/dL; RDW 13,1%, Plaquetas 145 x1000/μL; Leucocitos 6 x1000/μL; Neutrófilos 3 x1000/μL; Linfocitos 2,4 x1000/μL; Monocitos 0,5 x1000/μL, Eosinófilos 0,1 x1000/μL; Basófilos 0,0 x1000/μL.
- Bioquímica: Glucosa 80 mg/dL; Creatinina 0,95 mg/dL; Sodio 141 mEq/L; Potasio 3,99 mEq/L; Ácido Úrico 5,9 mg/dL; Proteínas Totales 6,8 g/dL; Albúmina 4,4 g/dL; ALT 13 U/L; AST 13 U/L; GGT 9 U/L; Fosfatasa Alcalina 49 U/L; LDH 105 U/L; Bilirrubina 0,5 mg/dL; Proteína C reactiva 0,3 mg/dL.

### 4. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

Por tanto, nos encontramos ante un caso de un paciente con eritrocitosis marcada, de años de evolución y sin asociarse a clínica constitucional, clínica microvascular o complicaciones de tipo trombotico o hemorrágico, por lo que se procede a realizar el estudio complementario habitual:

- Gasometría arterial ambiente: pO<sub>2</sub> arterial 81 mmHg (83-108 mmHg), pCO<sub>2</sub> arterial 40mmHg (35-48 mmHg).
- Radiografía de tórax: no se evidencia infiltrados, no datos de atrapamiento aéreo sugestivo de enfermedad obstructiva.
- Eritropoyetina: 15 mU/mL (5-20 mU/mL).
- Ecografía de abdomen incluyendo Doppler renal: no masas ni visceromegalias, no alteraciones del parénquima renal, no alteraciones del flujo de la arteria renal.

- Frotis de sangre periférica: anodino, no células inmaduras ni alteraciones de serie roja, blanca o plaquetar.
- Estudio de biología molecular de mutación V617F en *JAK2* (qPCR) y detección de mutaciones en el exón 12 de *JAK2* (secuenciación Sanger): negativos.
- Además, revisando los estudios previos realizados en una valoración por Hematología en 2015 se evidencia un estudio negativo para mutaciones del receptor de EPO (*EPOR*) (secuenciación Sanger) y para mutaciones responsables de neoplasias mieloproliferativas mediante NGS (genes *FLT3*, *JAK2*, *MPL*, *RAS*, *CBL*, *RUNX1*, *ETV6*, *GATA1*, *TP53*, *TET2*, *ASXL1*, *EZH2*, *DNMT3A*, *IDH1*, *IDH2*, *SF3B1*, *SRSF2*, *U2AF1*, *ZRSR2*).

### 5. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Por tanto, ante los resultados previos, nos encontramos ante un paciente con una poliglobulia crónica, con antecedentes familiares (tantos ascendientes como descendientes) de poliglobulia, y sin evidencia de causas adquiridas para su desarrollo (o al menos que no justifican su Hto). Los niveles de EPO se encuentran aumentados lo cual hace sospechar una causa congénita, y por tanto se solicita un estudio de NGS de eritrocitosis congénita detectándose una variante patogénica con una frecuencia alélica de la variante (VAF) del 50% (compatible con herencia germinal) en el gen *EGLN1* (p.R371H, categorizada como patogénica en las bases de datos consultadas (Varsome, ClinVar) y previamente descrita en la literatura en relación con eritrocitosis congénita<sup>1</sup>. Esta mutación es responsable de una disregulación del mecanismo de detección de la hipoxia y por tanto de cuadros de eritrocitosis congénita. Además, se detecta la variante p.E484\* con VAF del 7,5% en el gen *ASXL1*, probablemente, dada la edad del paciente, en relación con hematopoyesis clonal de significado incierto (CHIP).

Por tanto, el diagnóstico definitivo es el de eritrocitosis congénita por mutación en heterocigosis en *EGLN1*.

### 6. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Como ya se ha comentado al principio, en el diagnóstico diferencial de las eritrocitosis debemos tener en cuenta dos aspectos; por una parte, si la eritrocitosis es primaria (es decir, independiente de la producción de EPO) o secundaria (debido a una producción adecuada o inadecuada de EPO); y por otra parte si esta es congénita o adquirida, para lo cual la disponibilidad de analíticas previas y la presencia de historia familiar serán relevantes.

Las formas más frecuentes de eritrocitosis son las secundarias adquiridas, que incluyen:

- Trastornos pulmonares: las situaciones de hipoxia, como son el síndrome de apnea-hipopnea del sueño, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica o el asma condicionan un aumento fisiológico de la EPO y por tanto de los hematíes. Aunque no es un trastorno per se, el residir en zonas a gran altitud condiciona una

menor presión atmosférica de O<sub>2</sub>, condicionando una situación de hipoxia y de eritrocitosis reactiva. Serán útiles para su diagnóstico la gasometría arterial basal, la radiografía de tórax y la espirometría.

- Trastornos renales: fundamentalmente la poliquistosis renal y la estenosis de arteria renal condicionan una hipoperfusión renal, lo cual es confundido por el riñón como una situación de hipoxia sistémica, conduciendo a una producción "inapropiada" de EPO. La ecografía con Doppler es útil para valorar la morfología renal, su perfusión, así como posibles masas abdominales y hepatoesplenomegalia.
- Tumores: existen tumores capaces de producir EPO, como son el hepatocarcinoma, el carcinoma renal o el leiomioma uterino.
- Otras causas menos frecuentes son la inyección subretiniana de EPO recombinante, el síndrome POEMS o el síndrome TEMPI (telangiectasias, eritrocitosis con EPO elevada, componente monoclonal, acúmulo de líquido perinéfrico y shunt intrapulmonar).

Dentro de las causas primarias adquiridas ya hemos comentado que nos referimos a las neoplasias mieloproliferativas crónicas tipo PV, cuyo diagnóstico por biología molecular es relativamente sencillo, si bien ante sospechas razonables sin alteraciones clásicas de *JAK2*, los estudios de NGS pueden ser útiles para detectar mutaciones no canónicas responsables de un estímulo autónomo de la eritropoyesis (en ocasiones hay PV asociadas a mutaciones de *CALR* o *SH2B3*)<sup>2</sup>.

Las causas primarias congénitas de eritrocitosis incluyen fundamentalmente las mutaciones del receptor de EPO, condicionando una activación constitutiva de este independiente de EPO, y produciendo por tanto una proliferación sostenida de la línea eritroide, y pudiendo presentar los pacientes datos de hiperviscosidad que requieran de tratamiento con flebotomías. A diferencia de en la PV, no se observa proliferación de otras líneas mieloides, hepatoesplenomegalia ni riesgo de transformación a mielofibrosis o leucemia aguda.

Las mutaciones germinales responsables de eritrocitosis secundaria, que abordaremos a continuación, afectan a distintos puntos de la vía que regula la sensibilidad a la hipoxia o bien a la propia estructura de la hemoglobina, y por tanto a la producción de EPO. Estos cuadros se encuentran caracterizados por presencia de eritrocitosis con agregación familiar, ausencia de datos sugestivos de trastorno mieloproliferativo y niveles de EPO elevados o inapropiadamente normales. Su diagnóstico radica en el empleo de técnicas de NGS para estudio de los genes implicados, si bien en el caso de las hemoglobinopatías estructurales la desviación a la izquierda de la curva de disociación de la Hb es bastante orientativo.

## 7. EVOLUCIÓN

Una vez corroborado el diagnóstico se le explicó de su naturaleza y de lo poco conocido de su curso evolutivo,

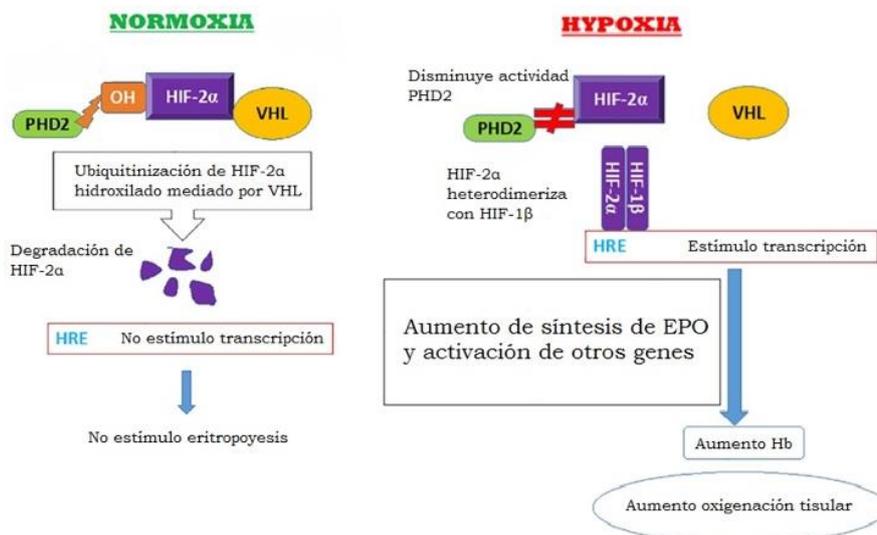
siendo difícil estimar el riesgo de trombosis y las medidas a aplicar para paliarlo. Se reafirmó la ausencia de neoplasia mieloproliferativa (si bien se detectó CHIP, lo cual es útil por si en el futuro desarrollara citopenias y alteraciones sugestivas de mielodisplasia) y se ofreció la realización del estudio a sus familiares con fenotipo congruente.

## 8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

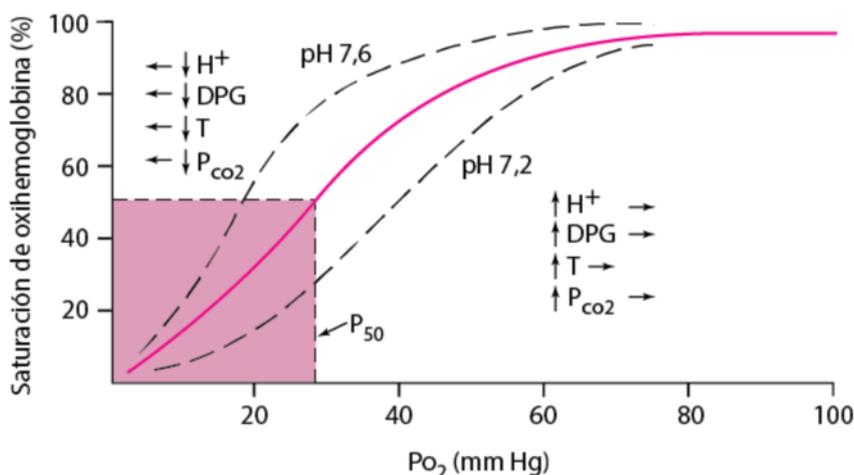
El estímulo para la producción de EPO comienza cuando la célula (células peritubulares renales) detecta hipoxia, lo cual estimula la producción de un factor transcripcional llamado factor inducible por hipoxia  $\alpha$  o HIF $\alpha$  (tres subtipos denominados HIF-1 $\alpha$ , HIF-2 $\alpha$  y HIF-3 $\alpha$ , de los cuales el 2 es el principal regulador de la vía) el cual en condiciones de adecuado aporte de oxígeno es hidroxilado por oxigenasas llamadas proteínas con dominio proliil-4-hidroxilasa o PHD (PHD1, PHD2 y PHD3)<sup>2,3</sup>. Las proteínas HIF $\alpha$  hidroxiladas pueden ser ubiquitinizadas y por tanto degradadas por la proteína de von Hippel-Lindau (pVHL). En situaciones de hipoxia no se produce la hidroxilación y degradación de HIF $\alpha$ , que estimula la transcripción del gen de EPO, condicionando un aumento de la hormona y un estímulo de la eritropoyesis, que al corregir la situación de hipoxia inhibe este ciclo (Figura 1).

Las alteraciones responsables de eritrocitosis secundaria pueden encontrarse en los distintos niveles de esta vía o bien en el paso previo<sup>2,3,4</sup>:

- Hemoglobinopatías estructurales: existen alteraciones de las globinas de la Hb que condicionan un aumento de la afinidad de estas por el O<sub>2</sub>, condicionando una falta de liberación de este a los tejidos y por tanto activando el mecanismo de hipoxia. Las mejor caracterizadas son la Hb Chesapeake o la Hb Koln. Se debe tener en cuenta que no todas las Hb de alta afinidad resultan en eritrocitosis, pues pueden conllevar asociados fenómenos de hemólisis compensatoria.<sup>2</sup>
- Mucho más raro son las mutaciones de la bifosfoglicerato mutasa, responsable de la producción en los eritrocitos de 2,3-bifosfoglicerato, molécula que actúa disminuyendo la afinidad de la Hb por el O<sub>2</sub> y condicionando su cesión a los tejidos.
- Estas dos situaciones previas condicionan que, en un gráfico que enfrente la pO<sub>2</sub> arterial y el porcentaje de saturación de Hb, esta curva se encuentre desplazada a la izquierda, es decir, que sea necesaria menor pO<sub>2</sub> para saturar la Hb, pues esta tiene alta afinidad por el O<sub>2</sub> (Figura 2).
- El resto de las alteraciones se encuentran a nivel de la vía de producción de la EPO, pudiendo producirse mutaciones a nivel del gen *VHL*, del gen *EGLN1* (productor de PDH2), del gen *EPAS1* (productos de HIF-2 $\alpha$ ) o del propio gen *EPO*.



**Figura 1.** Esquema general de regulación de la transcripción del gen *EPO*. En condiciones de normoxia, el factor HIF-2 $\alpha$  es hidroxilado por PHD2, lo cual hace que pueda ser reconocido y degradado por la proteína VHL, impidiendo su unión a HIF-1 $\beta$ . En situación de hipoxia se inhibe a PHD2, por lo que no se degrada HIF-2 $\alpha$  y este heterodimeriza con HIF-1beta actuando como factor de transcripción de EPO y otros genes relacionados. Adaptada de: Mallik *et al.* 2021.



**Figura 2.** Curva de disociación de la oxihemoglobina. En el eje X se indica la presión arterial de O<sub>2</sub>, en el eje Y se muestra el porcentaje de saturación de la oxihemoglobina. El término P<sub>50</sub> se refiere a la PO<sub>2</sub> necesaria para saturar el 50% de los receptores de Hb. En el déficit de 2,3-DPG y en las Hb de alta afinidad la curva se desvía a la izquierda y el P<sub>50</sub> se reduce, lo cual indica que es necesario menor O<sub>2</sub> para saturar la Hb, pues esta tiene más apetencia por el oxígeno. Tomada de: Manual MSD.

Ilustraciones. Curva de disociación de la hemoglobina. Disponible en:

<https://www.msmanuals.com/es-es/professional/multimedia/figure/curva-de-disociaci%C3%B3n-de-la-oxihemoglobina>

Para el estudio de las hemoglobinopatías de alta afinidad generalmente sospechado ante el desvío a la izquierda de la curva de disociación de la Hb previamente mencionado se emplea la técnica de cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), si bien existen casos no detectables mediante esta técnica y en los cuales generalmente se precisa de secuenciación de los genes de las cadenas alfa y beta. Igualmente, si se sospecha una alteración de la vía de detección de la hipoxia se lleva a cabo secuenciación de

los genes *VHL* (exones 1-3), *EGLN1* (exones 1-5) y *EPAS1* (exones 9 y 12)<sup>2</sup>.

El caso que nos ocupa, como hemos mencionado previamente es debido a una mutación en heterocigosis en el gen *EGLN1* (ubicado en el cromosoma 1p), responsable de la síntesis de PDH2, que como hemos dicho participa en la hidroxilación (y posterior degradación por pVHL) de HIF $\alpha$ . La pérdida de función de uno de los alelos es suficiente

para producir el cuadro clínico de eritrocitosis. En la mayoría de los casos descritos, sin conocer la causa exacta, los niveles de EPO son normales<sup>3</sup>.

En cualquier caso, debido a su baja frecuencia y a su relativo reciente descubrimiento, el manejo de los pacientes con eritrocitosis congénita es controvertido, pues la realización de flebotomías puede incluso agravar el cuadro al estimular más aún la eritropoyesis. Será fundamental el consejo genético y el rastreo de otros familiares afectados para evitar innecesarios estudios adicionales y potenciales medidas yatrogénicas.

Recalcar por último sobre lo infrecuente de estos trastornos, en una revisión sobre su experiencia en la Clínica Mayo<sup>4</sup>, la prevalencia de detección de mutaciones de los pacientes evaluados fue del 0,5-2,2%.

Comprender las vías fisiológicas de la hematopoyesis, a lo cual contribuyen los casos de pacientes con alteraciones en puntos determinados, puede ser útil además para el desarrollo de nuevas moléculas y estrategias terapéuticas. Es el caso de los inhibidores de PHD<sup>5</sup>, enzima sobre la cual se producía la mutación en nuestro caso, que se encuentran en desarrollo clínico (roxadustat, ya aprobado en China; daprodustat y vadadustat) para la anemia de la enfermedad renal crónica con resultados prometedores y con expectativas de que puedan aplicarse a otras formas de anemia.

#### BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- B. Arrizabalaga. Eritrocitosis. En: Miguel A. Sanz, Enric Carreras. Manual Práctico de Hematología Clínica 2019. 6ª ed. Antares; 2019. 71-78.
- Hidalgo M. García EJ. 81. Trastornos de la serie roja. En: Miguel E. et al. Autor/es del capítulo. Título del capítulo. En: Manual de Diagnóstico y Terapéutica Médica. 9ª ed. Madrid: MSD; 2022. 1277-1294.

#### BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. Percy MJ, Furlow PW, Beer PA, Lappin TR, McMullin MF, Lee FS. A novel erythrocytosis-associated PHD2 mutation suggests the location of a HIF binding groove. *Blood*. 2007 Sep 15;110(6):2193-6.
2. Gangat N, Szuber N, Pardanani A, Tefferi A. JAK2 unmutated erythrocytosis: current diagnostic approach and therapeutic views. *Leukemia*. 2021 May;35:2166-2181.
3. Mallik N, Das R, Malhotra P, Sharma P. Congenital erythrocytosis. *Eur J Haematol*. 2021 Jul;107(1):29-37.
4. Gangat N, Oliveira JL, Porter TR, Hoyer JD, Al-Kali A, Patnak MM, Pardanani A, Tefferi A. Erythrocytosis associated with *EPAS1(HIF2A)*, *EGLN1(PHD2)*, *VHL*, *EPOR* or *BPGM* mutations: The Mayo Clinic experience. *Haematologica*. 2022 May 1;107(5):1201-1204.
5. Sangani NS, Haase VH. Hypoxia-Inducible Factor Activators in Renal Anemia: Current Clinical Experience. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2019 Jul;26(4):253-266.

# 29 - HIPERLEUCOCITOSIS EN UN NEONATO CON SÍNDROME DE DOWN POR UNA CAUSA NO TAN INFRECLENTE

**Autores:** Alberto Blanco Sánchez\*; Miguel Navarro Sánchez\*; Gloria Pérez Segura.

\*Ambos autores han colaborado de forma equitativa en la redacción del texto.

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

**Palabras clave:** Leucemia mieloide aguda, Síndrome de Down, Mielopoyesis anormal transitoria.

## 1. INTRODUCCIÓN

El síndrome de Down (SD), la aneuploidía humana más frecuente compatible con la vida, se presenta aproximadamente en 1 de cada 700 recién nacidos vivos. La trisomía del cromosoma 21 presente en estos pacientes conlleva una serie de características fenotípicas y entidades clínicas propias, entre las que se destacan: malformaciones cardiovasculares, alteraciones musculoesqueléticas, discapacidad intelectual y demencia precoz, así como alteraciones hematológicas.

Respecto a estas últimas, el síndrome de Down se ha asociado a una mayor predisposición para el desarrollo de neoplasias hematológicas, en particular la leucemia linfoblástica aguda (LLA), con un riesgo 20 veces mayor de desarrollarla respecto a niños sin SD. La LLA en pacientes con SD en general tiene un peor pronóstico que la LLA en población pediátrica sin SD, con una peor supervivencia global y libre de enfermedad.

También presentan mayor riesgo de padecer leucemia mieloide aguda (LMA), siendo aproximadamente 150 veces más su frecuencia que en individuos sin SD. La LMA en pacientes con SD también tiene características diferenciales propias. En ocasiones viene precedida por una entidad preleucémica conocida como mielopoyesis anormal transitoria (TAM), única en estos pacientes. Esta se relaciona con la propia trisomía 21, que de por sí altera la hematopoyesis hepática fetal, y con la adquisición de mutaciones en el gen GATA1.

Para el diagnóstico de esta entidad, al igual que para el de una enfermedad heterogénea como es la leucemia mieloide aguda, es fundamental realizar un diagnóstico integrado con todas las técnicas disponibles y a nuestro alcance a día de hoy. Es necesario complementar la citomorfología convencional con la citometría de flujo, para la tipificación inmunofenotípica, los estudios de biología molecular y la citogenética, ya que nos van a proporcionar toda la información para llegar a una mayor precisión diagnóstica, a una valoración pronóstica inicial y la consecuente actitud terapéutica.

## 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

Se trata de un varón recién nacido, de 36 semanas de embarazo (36+2). Su madre había tenido 3 gestaciones previas sin incidencias. El actual embarazo había sido controlado, habiendo resultado positivo el cribado para

cromosopatía con alto riesgo para trisomía del cromosoma 21. Existía compatibilidad RhD entre el feto y la madre y esta última no contaba con presencia de anticuerpos irregulares antieritrocitarios.

En la ecografía realizada en la semana 35, se observa hepatoesplenomegalia y derrame pericárdico, por lo que se decide programar una cesárea.

Se efectúa el procedimiento sin incidencias, naciendo un varón con un peso de 2.730 gramos. Presenta reanimación neonatal tipo III, requiriendo ventilación con presión positiva durante 6 minutos hasta conseguir esfuerzo ventilatorio escaso. Se traslada a UVI neonatal donde se instala DuoPAP, se inicia monitorización de constantes y electrocardiográfica (ECG), y se solicita una analítica urgente.

## 3. INFORME DE LABORATORIO

En el hemograma destaca una hiperleucocitosis a expensas de linfocitos acompañada de anemia: hemoglobina 12,9 g/dL, leucocitos 200.000/μL, linfocitos 141.400/μL, neutrófilos 8.300/μL. Se trataba de una anemia macrocítica regenerativa (volumen corpuscular medio 115fL y reticulocitos 244.000/μL) con plaquetas normales de 366.000/μL. LDH 8918 U/l. La función renal era normal, con hiperpotasemia grave (8.45 mEq/L) sin alteraciones en el ECG e hiperuricemia (ácido úrico 7,3 mg/dL). Presentaba también elevación mixta de enzimas hepáticas, citolisis y colestasis (ALT 27 U/l, AST 149 U/l, GGT 245 U/l, Fosfatasa Alcalina 415 U/l, bilirrubina directa 0.49 mg/dl), con ausencia de reactantes de fase aguda.

## 4. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

- Leucemia linfoblástica aguda (LLA)

En particular la LLA con reordenamiento de KMT2A, que en ocasiones sufre traslocaciones in útero, con un periodo corto entre la translocación y el desarrollo de enfermedad, y que se corresponde con el subtipo de LLA más frecuente en menores de 1 año.

- Leucemia mieloide aguda (LMA)

En primer lugar, la megacarioblástica (M7 de la clasificación FAB), en ocasiones difícil de distinguir mediante el examen microscópico de otros tipos de LMA y que se confirma con el estudio inmunofenotípico.

## - Reacción leucemoide

Definida como una leucocitosis que supera la cifra de 50.000 leucocitos/ $\mu$ L (para algunos autores por encima de 30.000/ $\mu$ L), simulando una leucemia, pero secundaria a otras causas (principalmente infecciosas). Pero en nuestro caso sin datos de infección en el neonato (sin fiebre ni elevación de reactantes de fase aguda) ni en la madre (no datos de corioamnionitis ni otro tipo de complicación obstétrica).

### 5. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

Se realiza un frotis de sangre periférica (SP), en el que se observa un 82% de blastos de tamaño variable, con alta relación núcleo-citoplasma, cromatina laxa con visualización ocasional de nucleolo y citoplasma basófilo agranular. Además, intensa anisopoiquilocitosis, rasgos displásicos en neutrófilos (alteraciones de la segmentación e hipogranulación), así como plaquetas grandes y gigantes degranuladas. Las microfotografías se muestran en las

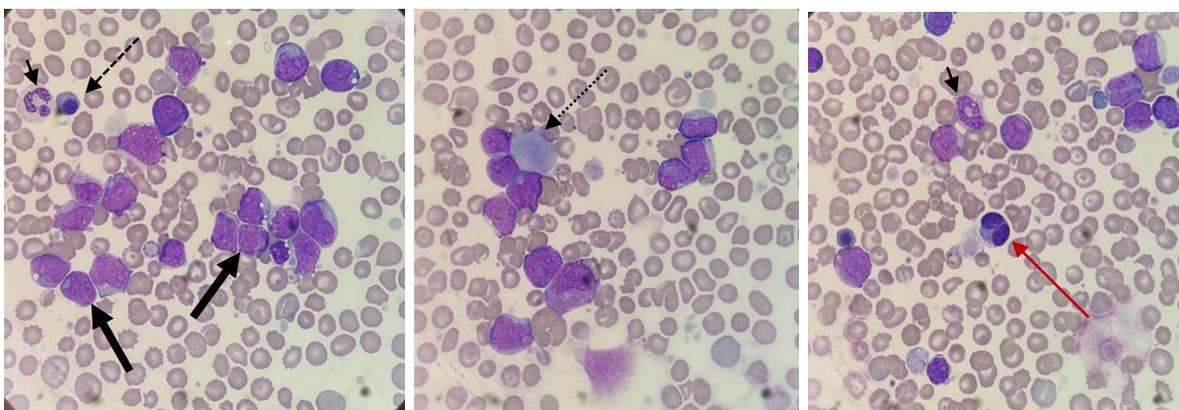
Figuras 1, 2 y 3.

El estudio del inmunofenotipo mediante citometría de flujo en sangre periférica detecta un 62% de blastos, positivos para CD34, CD117, CD36, CD61, CD42b, los cuales constituyen marcadores de diferenciación megacariocítica, con expresión aberrante de CD7 y parcial de CD56.

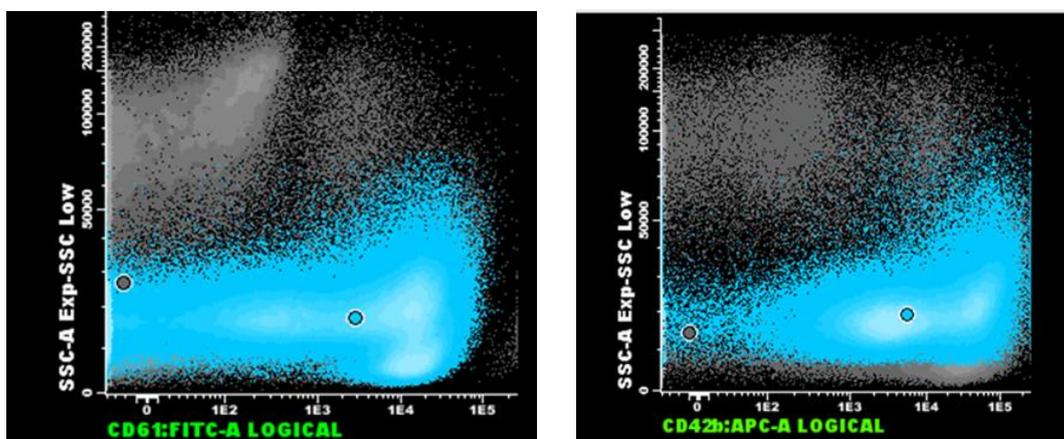
En las Figuras 5 y 6, se muestra los gráficos de dispersión correspondientes al análisis por citometría de flujo.

Se realiza un análisis citogenético mediante cariotipo que muestra en todas las metafases 47 cromosomas con fórmula sexual XY y una trisomía primaria del cromosoma 21, sin otras alteraciones visibles.

En el estudio de biología molecular, se detecta mediante secuenciación de ADN por NGS (Next Generation Sequencing), una variante en el gen GATA1 que genera un cambio en el marco de lectura, con una frecuencia alélica del 82% (c.85\_90delGAATCAinsATTC, p.E29fs). Dicha variante no se encuentra descrita en las bases de datos consultadas, pero sí una variante similar en el mismo



**Figuras 1, 2 y 3.** Microfotografías de extensiones de sangre periférica. Se observan abundantes blastos de mediano y gran aumento, alta relación núcleo-citoplasma, cromatina laxa con algún nucleolo visible, contorno nuclear ocasionalmente irregular y citoplasma basófilo agranular, acompañados de plaquetas grandes y gigantes degranuladas, marcada anisopoiquilocitosis y aislados eritroblastos. Neutrófilos hipogranular (punta de flecha, figura 1) y con alteración de la segmentación nuclear (punta de flecha, figura 3). Se observa un megacariocito binucleado (flecha roja). Elaboración propia.



**Figuras 5 y 6.** Gráficos de dispersión correspondientes al análisis por citometría de flujo de SP. En azul se puede observar la población de blastos mieloides seleccionada a partir de la población CD34+, que muestra positividad para CD61 y CD42b. Elaboración propia.

codón, reportada en casos de LMA megacarioblástica y otras neoplasias mieloides asociadas a Síndrome de Down.

## 6. DIAGNÓSTICO

Leucemia mieloide aguda megacarioblástica asociada a síndrome de Down. En caso de que la evolución fuera autolimitada podría tratarse de una mielopoyesis anormal transitoria.

## 7. EVOLUCIÓN

Se inició tratamiento con citarabina a dosis de 1,5mg/Kg cada 24 horas durante 5 días con intención citorreductora. Se inició además sueroterapia intensiva, tratamiento hipouricemiente con alopurinol y una dosis puntual de rasburicasa por aumento de parámetros de lisis tumoral tras el inicio de la quimioterapia (zénit de ácido úrico de 10mg/dL).

La evolución fue favorable, con resolución del derrame pericárdico y reducción de las organomegalias sin complicaciones infecciosas durante el ingreso. Analíticamente, se normalizaron las cifras del hemograma. Finalmente recibió el alta tras 35 días de hospitalización.

Durante el seguimiento posterior tuvo requerimientos transfusionales puntuales sin otras complicaciones.

El paciente tiene actualmente 12 meses de vida, continúa seguimiento ambulatorio y se mantiene estable sin datos de recaída de la enfermedad y sin haber vuelto a precisar transfusiones.

## 8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

La leucemia aguda neonatal se define como aquella que aparece en los primeros 28 días de vida, siendo en la mayoría de los casos congénita. Se trata de una entidad muy infrecuente (3 casos por cada millón de recién nacidos vivos). La mayoría son de estirpe mieloide, pese a que en el resto de la población pediátrica predomina la de origen linfocítico.

La característica analítica más constante es la hiperleucocitosis, que tiende a empeorar en las primeras horas o días de vida, a diferencia de la leucocitosis secundaria a infección severa o antecedente de corioamnionitis materna. En estos casos se pueden observar también blastos circulantes en SP (habitualmente por debajo del 8%, predominando otras formas inmaduras de la serie granulocítica como mielocitos y metamielocitos).

Las alteraciones genéticas más frecuentemente detectadas son t(4;11)/MT2A-AFF1, t(1;22)/RBM15-MLK1, t(8;16)/KAT6A-CREBBP. El pronóstico de la leucemia aguda en el recién nacido es peor que en pacientes de mayor edad.

Existe una patología preleucémica, más frecuente que la anterior, y de pronóstico muy diferente: la mielopoyesis anormal transitoria. Constituye una entidad reconocida por la clasificación de neoplasias hematológicas de la OMS desde su clasificación de 2008. Se presenta únicamente en

recién nacidos con síndrome de Down y tiene características citológicas e inmunofenotípicas que la hacen indistinguibles de una leucemia mieloide aguda de estirpe megacariocítica.

Este tipo de leucemia, aunque puede presentar rasgos morfológicos característicos, como la presencia de protrusiones citoplasmáticas o un citoplasma hiperbasófilo agranular, es difícilmente distinguible de otros tipos mediante la microscopía óptica, necesitando el empleo de estudios inmunofenotípicos que demuestren la expresión de marcadores de línea megacariocítica (CD61, CD41 o CD42). Por otro lado, son frecuentes los rasgos displásicos en forma de diseritropoyesis y disgranulopoyesis, que, aunque se manifiesten en un porcentaje significativo de las células, no ha de incluir a esta patología dentro de las leucemias con cambios relacionados con la displasia.

Su incidencia en pacientes con este síndrome es relativamente alta (alrededor del 10% presenta >10% de blastos), pero pasa desapercibida en la mayoría de los casos por su curso asintomático (un 10-15% presenta mutaciones en GATA1 con un porcentaje <10% de blastos circulantes, considerándose TAM silente).

El diagnóstico diferencial se hace con una reacción leucemoide (sobre todo en recién nacidos pretérmino), el neuroblastoma estadio IVS y leucemias neonatales no TAM. Estas últimas suelen presentar diferenciación monocítica/monoblástica, asocian con más frecuencia anemia y se han de sospechar en pacientes sin síndrome de Down. Sin embargo, la TAM puede aparecer en niños portadores de un mosaicismo con trisomía del 21 aunque no presenten los rasgos fenotípicos característicos.

A nivel clínico, suele aparecer hepatoesplenomegalia y la citopenia más constante es la trombocitopenia. La hiperleucocitosis es frecuente y puede comprometer la vida del paciente. Con menos frecuencia produce ascitis, distrés respiratorio, y derrame pericárdico o pleural. Aunque la mayoría de casos se desarrollan en los primeros días de vida, existen casos de desarrollo fetal, como en nuestro caso, pudiendo provocar hydrops fetalis.

La mayoría de pacientes con TAM experimentan una remisión completa en una mediana de tiempo de 3 meses desde el debut. Sin embargo, hasta un tercio de los pacientes desarrollan una leucemia aguda no transitoria en los años siguientes, secundaria a la adquisición de mutaciones adicionales (especialmente en reguladores epigenéticos y cohesinas, como han demostrado estudios de whole genome sequencing). Lamentablemente no se han identificado factores predictores de evolución posterior a leucemia aguda, por lo que estos pacientes requieren seguimiento a largo plazo y solo el curso evolutivo puede corroborar la transitoriedad del proceso leucémico.

Desde el punto de vista molecular, la enfermedad se caracteriza por presentar mutaciones adquiridas en el dominio N-terminal del gen GATA1, que codifica para el factor de transcripción homónimo, y que genera un truncamiento de la proteína. Esto, sumado a la disregulación de la hematopoyesis hepática generada por la trisomía del 21, provoca una proliferación selectiva de los progenitores megacariocítico-eritroides. La evidencia de

que las mutaciones en GATA1 son adquiridas proceden de la observación de que, tras la remisión, éstas no son detectables. En cuanto al trastorno de la hematopoyesis comentada, se ha observado un aumento de megacariocitos en el hígado fetal de pacientes con síndrome de Down, así como una alteración en la diferenciación y producción plaquetaria.

La causa de la remisión espontánea, que se ha observado también en otras leucemias neonatales no TAM, no es bien conocida. Se postula que los cambios en el microambiente y programa transcripcional en el paso de la hematopoyesis fetal a la posnatal podrían explicar este fenómeno. El clon leucémico se beneficiaría del microambiente hematopoyético del hígado fetal, y perdería su ventaja proliferativa con el traslado de la hematopoyesis a la médula ósea, donde no encontraría un nicho favorable.

En cuanto al riesgo de padecer otro tipo de neoplasias, cabe mencionar el hecho de que, de manera ciertamente paradójica, los individuos con SD poseen menor riesgo de desarrollar tumores sólidos. Pese a que la literatura y evidencia disponible es escasa y heterogénea, parece que los individuos con SD tienen un 50% menos de riesgo de desarrollar cáncer no hematológico.

## 9. CONCLUSIONES

El hallazgo de leucocitosis en la práctica clínica se relaciona en la mayoría de casos con causas secundarias (infecciones, fármacos, tumor sólido...), constituyendo lo que se conoce como leucocitosis reactiva. Sin embargo, este hallazgo siempre ha de interpretarse dentro del contexto clínico particular del paciente, y ha de elevar el grado de sospecha hacia una hemopatía maligna en poblaciones de riesgo (como el síndrome de Down), cuanto mayor sea la cifra leucocitaria, así como con la asociación de citopenias.

El examen microscópico de SP constituye una herramienta rápida, de bajo coste y fundamental para el cribado de hemopatías mieloides, y en ocasiones suficiente para el diagnóstico certero de leucemia aguda.

Sin embargo, desde el desarrollo de técnicas más modernas como la citometría de flujo y los estudios de biología molecular, la clasificación de los tumores hematológicos en general y de las leucemias agudas en particular se ha enriquecido, incluyendo progresivamente entidades concretas con un curso y pronóstico específicos.

Por tanto, a día de hoy es imprescindible en el área de las hemopatías malignas la combinación de las distintas técnicas de laboratorio disponibles para alcanzar un diagnóstico integrado, esto es, una clasificación precisa de la enfermedad que permita brindar un manejo individualizado.

## BIBLIOGRAFÍA

- Antonarakis SE, Skotko BG, Rafii MS, Strydom A, Pape SE, Bianchi DW, et al. Down syndrome. *Nat Rev Dis Primers*. 2020;6(1):9.
- Bhatnagar, N., Nizery, L., Tunstall, O., Vyas, P., & Roberts, I. (2016). Transient Abnormal Myelopoiesis and AML in Down Syndrome: an Update. *Current hematologic malignancy reports*, 11(5), 333–341.
- Bombery, M., & Vergilio, J. A. (2014). Transient abnormal myelopoiesis in neonates: GATA get the diagnosis. *Archives of pathology & laboratory medicine*, 138(10), 1302–1306.
- Brown P. A. (2021). Neonatal Leukemia. *Clinics in perinatology*, 48(1), 15–33.
- Döhner H, Wei AH, Appelbaum FR, Craddock C, DiNardo CD, Dombret H, et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2022 recommendations from an international expert panel on behalf of the ELN. *Blood*. 2022;140(12):1345-77.
- Haferlach T, Schmidts I. The power and potential of integrated diagnostics in acute myeloid leukaemia. *Br J Haematol*. 2020;188(1):36-48.
- Kuo, E., & Kumarapeli, A. R. (2020). Placental Pathology in Down Syndrome-Associated Transient Abnormal Myelopoiesis. *Archives of pathology & laboratory medicine*, 144(3), 388–393.
- Lee P, Bhansali R, Izraeli S, Hijiya N, Crispino JD. The Biology, Pathogenesis and Clinical Aspects of Acute Lymphoblastic Leukemia in Children with Down Syndrome. *Leukemia*. 2016;30(9):1816-23.
- Rethoré MO, Rouëssé J, Satgé D. Cancer screening in adults with down syndrome, a proposal. *Eur J Med Genet*. 2020;63(4):103783.
- Roberts, I., Fordham, N. J., Rao, A., & Bain, B. J. (2018). Neonatal leukaemia. *British journal of haematology*, 182(2), 170–184.
- Seewald L, Taub JW, Maloney KW, McCabe ERB. Acute leukemias in children with Down syndrome. *Mol Genet Metab*. 2012;107(1-2):25-30.
- Swerdlow, S. H. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2017.
- Watanabe K. (2019). Recent advances in the understanding of transient abnormal myelopoiesis in Down syndrome. *Pediatrics international : official journal of the Japan Pediatric Society*, 61(3), 222–229.
- Woessner S, Florensa L. La citología óptica en el diagnóstico hematológico. 5ª ed. Barcelona: Fundación española de Hematología y Hemoterapia; 2006.

# 30 - IMPORTANCIA DEL FROTIS DE SANGRE PERIFÉRICA EN LA NEUTROPENIA

**Autores:** Guillermo Ramos Moreno\*, Reyes Mas Babío, Sandra Gómez Rojas.

\*Ambos autores han colaborado de forma equitativa en la redacción del texto.

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

**Palabras clave:** Neutropenia, Pseudoneutropenia, Frotis.

## 1. INTRODUCCIÓN

La neutropenia es una alteración analítica frecuentemente encontrada en la práctica clínica habitual, y que en adultos se corresponde con un recuento de neutrófilos inferior a 1500/ $\mu$ L. Existen distintos grados de neutropenia en función del recuento total de neutrófilos, pudiendo tratarse de una neutropenia leve, cuando el recuento es mayor o igual a 1000 e inferior a 1500 neutrófilos/ $\mu$ L, neutropenia moderada, con recuento mayor o igual a 500 e inferior a 1000; y neutropenia severa, cuando encontramos menos de 500 neutrófilos/ $\mu$ L. En el caso de que nos encontremos con un recuento inferior a 200 neutrófilos/ $\mu$ L, podemos decir que estamos ante una agranulocitosis.

Para estudiar la neutropenia, es fundamental solicitar un hemograma completo para evaluar la presencia o ausencia de otras citopenias (anemia y trombocitopenia) o, por el contrario, elevación de recuentos (policitemia y trombocitosis), así como hacer una revisión exhaustiva de la historia clínica del paciente con el objetivo de hallar posibles causas que puedan explicar estos hallazgos, haciendo una entrevista clínica dirigida a revelar infecciones pasadas, medicación que toma actualmente, alteraciones gastrointestinales o antecedentes familiares relevantes, entre otros. De este mismo modo, es muy importante hacer una exploración física completa al paciente para encontrar signos que puedan orientar el diagnóstico. Una vez hemos explorado al paciente, solicitado un hemograma completo y hemos revisado la historia clínica, habría que plantearse la realización de una extensión de sangre periférica (frotis) para observar la morfología de los neutrófilos y el resto de células de la sangre buscando pistas sobre el posible origen de la neutropenia.

En cuanto al origen de esta alteración, la neutropenia puede responder a diferentes etiologías, algunas de las cuales requieren un diagnóstico y tratamiento precoz como, por ejemplo, la leucemia aguda, por lo que es importante estar familiarizado con los valores que se corresponden con ella y poder valorar a qué pueden deberse. La neutropenia en adultos puede tratarse tanto de una alteración congénita como de cualquier cuadro adquirido que derive en neutropenia. Además, existen tres mecanismos/orígenes principales que pueden explicar el descenso de neutrófilos en sangre periférica: origen central en el que la médula disminuye la producción y diferenciación de elementos mieloides, tales como infecciones, déficits nutricionales, invasión de la médula ósea por tumores sólidos o

síndromes linfo/mieloproliferativos (agudos o crónicos) y toxicidad por fármacos; destrucción inmunológica de neutrófilos, que puede deberse tanto a toxicidad farmacológica como reacción autoinmune; y “secuestro” vascular de neutrófilos circulantes, principalmente por parte del bazo.

## 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

### 2.1. Motivo de consulta:

Neutropenia inexplicada.

### 2.2. Antecedentes personales:

Paciente varón de 87 años natural de España, con antecedentes médicos más relevantes:

- Hipertensión arterial con lesión de órgano diana (renal, cardíaca). Diabetes tipo 2 con escaso control. Dislipemia.
- Hepatitis por VHB pasada.
- Colangitis litiásica intervenida en 2013, con postoperatorio complicado y perforación de asa intestinal que evolucionó a fístula enterocutánea a colon transverso de gran calibre y débito.
- Enfermedad renal crónica por probable nefroangiosclerosis con creatininas basales en torno a 1.5 mg/dL
- Infecciones del tracto urinario de repetición desde sondaje vesical permanente a principios de 2022.
- Ingreso en mayo de 2022 por absceso prostático que requirió drenaje, con aislamiento en urocultivo de *Klebsiella pneumoniae* portadora de BLEE y *Proteus mirabilis* portador de BLEE y en pus de drenaje de *Enterococcus Faecium* y *Staphylococcus Aureus* meticilin-sensible. Institucionalizado en residencia a raíz de este ingreso por pérdida de situación funcional.
- Nuevo ingreso en junio de 2022 por sepsis urinaria con aislamiento en urocultivo de *Proteus mirabilis* portador de BLEE.
- Anemia macrocítica de varios meses de evolución con ácido fólico y vitamina B12 normales.

### 2.3. Antecedentes familiares:

El paciente no presenta antecedentes familiares conocidos de interés.

## 2.4. Enfermedad actual:

Paciente institucionalizado derivado a Urgencias por el médico de su residencia el 2/9/2022 por presentar ese mismo día cuadro de tiritona con fiebre de 39°C, acompañado de bajo nivel de conciencia con tendencia al sueño e hipotensión. Además, presenta episodio puntual de desaturación hasta SaO<sub>2</sub> 92%. En las semanas previas había presentado quejas de escozor y molestias a nivel de la sonda vesical, por lo que había recibido un ciclo de antibioterapia empírica con cefuroxima, sin recogerse muestra de orina para urocultivo.

En Urgencias el paciente es diagnosticado de shock séptico de origen urinario con hipotensión y fracaso renal agudo sobre crónico, por lo que ingresa a cargo de Medicina Interna para tratamiento.

Durante el seguimiento analítico del paciente durante su estancia en Medicina Interna, se objetiva en el hemograma, al cuarto día de ingreso, una neutropenia de 300 neutrófilos/ $\mu$ L, no observada previamente, y sin un motivo claro que explique esta alteración analítica, por lo que se decide realizar un parte de interconsulta a Hematología.

## 2.5. Exploración física:

A su llegada a Urgencias paciente afebril, alerta y tranquilo. Orientado en las tres esferas. Palidez mucocutánea y eupneico. Presenta tendencia a la hipotensión con TA 90/60 mmHg pero con PAM >65, sin signos de hipoperfusión. FC de 67 lpm y SaO<sub>2</sub> 97% con GN a 2lpm. A la exploración física:

- Murmullo vesicular conservado con crepitantes ocasionales bibasales.
- Auscultación arrítmica.
- Abdomen sin signos de irritación peritoneal.
- Miembros inferiores sin edemas ni signos de trombosis.

Tras su estancia en Medicina Interna, el paciente recupera tensiones arteriales normales y pueden retirarse las gafas nasales.

La exploración física el primer día que se objetiva la neutropenia es la siguiente:

- Constantes: tensión arterial 131/53 mmHg, Frecuencia cardíaca 58 lpm, Saturación O<sub>2</sub> 98% basal, TA 36,7 °C, Glucemia 132 mg/dL.
- Discreta palidez de piel y mucosas con leve deshidratación, normoperfundido.
- Eupneico en reposo en sedestación, sin trabajo respiratorio.
- Consciente y orientado en las tres esferas.
- Auscultación cardíaca: arrítmica con soplo sistólico piante panfocal sin irradiación clara.
- Auscultación pulmonar: murmullo vesicular conservado con hipofonesis bibasal sin crepitantes ni ruidos patológicos sobreañadidos.
- Abdomen: fístula enterocutánea a colon transverso en mesogastrio, sin sangrados ni signos de complicación

infecciosa a este nivel, se visualizan restos fecales de aspecto normal sin productos patológicos.

- EEII: asimetría de miembros con edemas bilaterales, con mayor aumento de MID respecto al contralateral.

## 3. INFORME DEL LABORATORIO

En la analítica sanguínea al ingreso el paciente presenta una hemoglobina de 9.2 mg/dL, 210000 plaquetas/ $\mu$ L, 26900 leucocitos/ $\mu$ L y 23800 neutrófilos/ $\mu$ L, con una bioquímica compatible con fallo renal agudo (creatinina 1.92 mg/dL, y Filtrado glomerular de 31) y elevación de reactantes de fase aguda (PCR 13 mg/dL). Estudio de coagulación dentro de la normalidad.

Tras cuatro días de ingreso con mejoría progresiva clínica y analítica, el paciente presenta el siguiente hemograma:

- Hemoglobina 8.2 g/dL. VCM 108.
- Plaquetas 153000/ $\mu$ L.
- Neutrófilos 0.3 x1000/ $\mu$ L.
- Resto de valores dentro de la normalidad.

Tras el hallazgo de la neutropenia de 300 neutrófilos/ $\mu$ L se decide repetir el hemograma a los dos días, donde se observa de nuevo neutropenia, con un recuento igual que el previo (300 neutrófilos/ $\mu$ L), siendo el resto del hemograma también similar al previo.

De esta manera, con vistas a hacer un seguimiento de la neutropenia, se vuelve a realizar un hemograma pasados otros dos días, donde se observa recuperación del recuento de neutrófilos con 1900 células/ $\mu$ L, siendo el resto del hemograma igual a los previos.

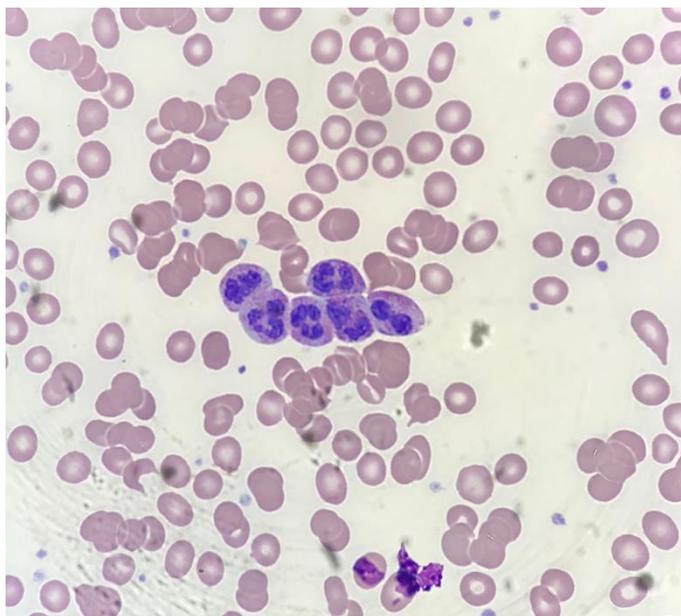
Al alta el paciente presenta el siguiente hemograma:

- Hemoglobina 11 g/dL. VCM 111.
- Plaquetas 219000/ $\mu$ L.
- Neutrófilos 2.9 x1000/ $\mu$ L.
- Resto de valores sin alteraciones.

## 4. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

Tras el hallazgo de neutropenia aguda no explicada por el cuadro clínico que presenta el paciente, se decide realizar un frotis de sangre periférica, cuyas imágenes se muestran en la Figura 1. El informe del frotis realizado al paciente el primer día que se objetiva la neutropenia es el siguiente:

- Serie roja con anisopoquilocitosis con equinocitos esporádicos.
- Serie blanca: aglutinación de neutrófilos más marcada en zonas periféricas del frotis, morfológicamente bien granulados y segmentados.
- Plaquetas bien granuladas.



**Figura 1.** Imagen de neutrófilos agregados al microscopio óptico (x40), en muestra de EDTA a temperatura ambiente. Elaboración propia.

Juicio clínico: agregación de neutrófilos compatible con pseudoneutropenia. Frotis sin alteraciones morfológicas significativas.

Tras estos hallazgos, se decide realizar control con nuevo frotis donde se vuelven a observar las mismas imágenes de aglutinación de neutrófilos. Se realiza además calentamiento de la muestra a 37°C y repetición del análisis, con normalización de la cifra de neutrófilos. Ante estos hallazgos se solicita nueva muestra, en tubo con citrato, en la que presenta una cifra normal de neutrófilos.

## 5. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Dados el hallazgo analítico de neutropenia espontánea que remite de forma súbita y la aglutinación de neutrófilos en el frotis de sangre periférica, se realiza el diagnóstico a nivel de laboratorio de pseudoneutropenia por EDTA.

## 6. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Al encontrarnos frente a una neutropenia, lo primero es observar el resto del hemograma y comprobar otras posibles citopenias. Además, comprobaremos analíticas previas para identificar posibles citopenias registradas previamente. En este caso nos encontramos con un paciente con anemia macrocítica ya conocida previamente, plaquetas en rango normal y una neutropenia de  $0.3 \times 1000$  células/ $\mu\text{L}$  de novo, puesto que analíticas previas del paciente contabilizaban un número normal de neutrófilos. Así, el siguiente paso sería hacer un repaso de las distintas causas que conllevan neutropenia para identificar el posible origen en este paciente en concreto.

Las infecciones constituyen una de las causas principales a descartar ante una neutropenia. Infecciones tales como las provocadas por VIH, CMV, VEB, coronavirus y hepatitis pueden conllevar desarrollo de neutropenia, especialmente durante la infancia, apareciendo la neutropenia durante los primeros días de la enfermedad. También infecciones bacterianas como brucelosis, fiebre tifoidea, tularemia o enteritis por *Shigella* sp. pueden ser causa de neutropenia.

Los fármacos también pueden producir neutropenia como reacción adversa, por lo que son un elemento a tener en cuenta a la hora de estudiar una neutropenia. En caso de que nos encontremos con un recuento inferior a 1000 células/ $\mu\text{L}$ , hay que descartar fármacos que produzcan neutropenia como reacción idiosincrásica, como ocurre con metimazol, ganciclovir o clozapina. Por otro lado, en caso de recuentos superiores a 1000 células/ $\mu\text{L}$ , las reacciones medicamentosas idiosincrásicas son menos frecuentes, por lo que habría que pensar fundamentalmente en fármacos inmunosupresores o citotóxicos.

Otras de las causas de neutropenia la encontramos en enfermedades autoinmunes, en las que en ocasiones la neutropenia constituye parte del debut de la enfermedad, como puede ocurrir en el lupus eritematoso sistémico o la artritis reumatoide.

En cuanto a causas centrales, hay que sospechar enfermedades hematológicas malignas, tales como leucemias aguda o síndrome mielo/linfoproliferativos, los cuales por proliferación desplazan o sustituyen la población celular normal de la médula ósea, produciendo citopenias en sangre periférica; así como también la aplasia medular. También como causas centrales hay que descartar déficits nutricionales (déficit de fólico, vitamina B12, enfermedad hepática) que expliquen una hipoplasia medular.

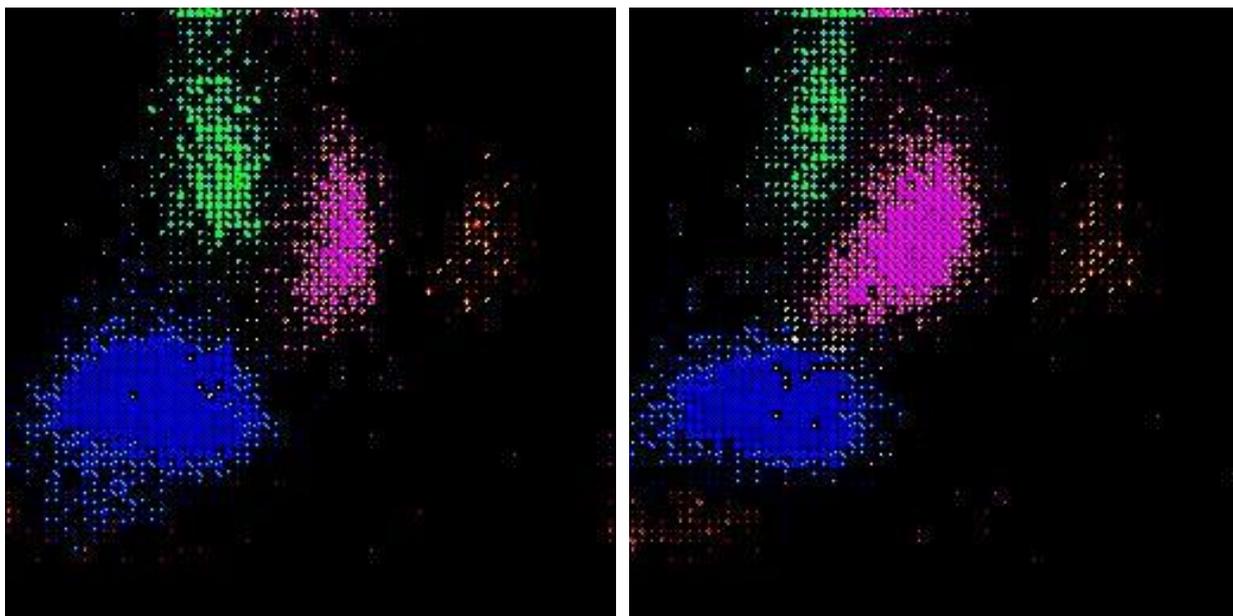
Respecto a los casos de neutropenia congénita, observada en los síndromes de Shwachman-Diamond, neutropenia cíclica o síndrome de Chediak-Higashi, entre otros, podría descartarse de inicio dada la ausencia de neutropenia en analíticas previas y la avanzada edad del paciente.

## 7. EVOLUCIÓN

Tras la repetición del hemograma y del frotis en días sucesivos se comprobó la presencia de agregados de neutrófilos en todas las extensiones, desapareciendo posteriormente tras varios controles de forma espontánea tras corrección del recuento de neutrófilos en el hemograma. Así se comprobó el diagnóstico de pseudoneutropenia, inducida por EDTA. Al alta el paciente se encontraba con cifra de neutrófilos normal.

## 8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

La leucoaglutinación es un fenómeno in vitro que puede causar una falsa neutropenia en los analizadores celulares automatizados. Se ha descrito generalmente en muestras anticoaguladas con EDTA, por lo que de forma general también se le designa pseudoneutropenia por EDTA.



**Figura 2.** Comparativa del gráfico de dispersión generado por el analizador celular automatizado en EDTA (izquierda, lectura de 300 neutrófilos/ $\mu$ L y la muestra repetida en citrato (derecha, lectura de 1900 neutrófilos/ $\mu$ L). Nótese la aparición de una población de neutrófilos (marcados en color rosa), previamente no detectada.

La sospecha diagnóstica comienza por la fluctuación brusca de la cifra de neutrófilos y la anormalidad del gráfico de dispersión generado por el analizador.

Generalmente se ha descrito un desplazamiento de la población de neutrófilos hacia la derecha (pérdida de complejidad), solapándose con la población de monocitos, y en ocasiones una pérdida de volumen (solapándose con la población de linfocitos). En nuestro caso, se produjo una pérdida tanto de complejidad como de volumen medido por el analizador. Figuras 2 y 3.

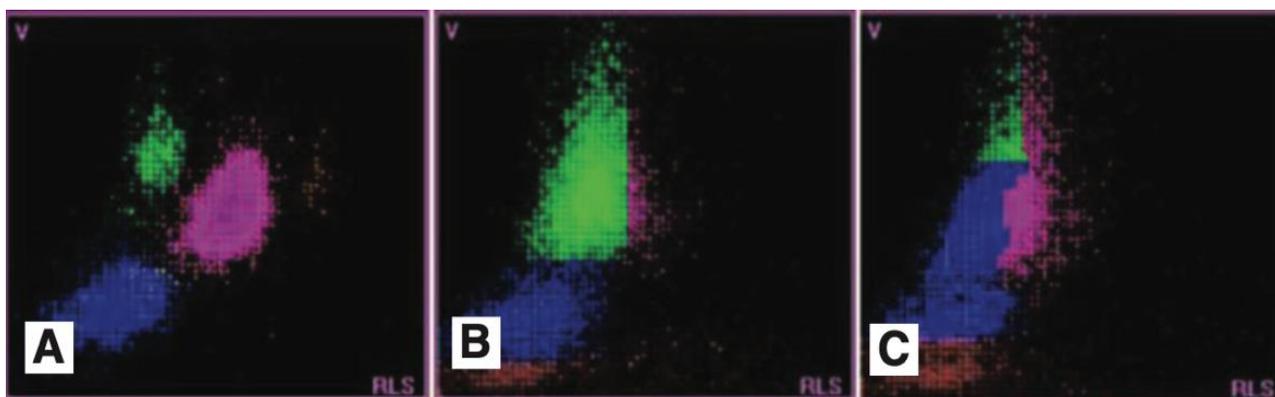
Además, generalmente se ha descrito asociado a ciertas patologías, como síndromes linfoproliferativos, infecciones o en enfermedad hepática.

El diagnóstico definitivo se establece mediante la visualización de los agregados en el frotis de sangre periférica. Se requiere un examen minucioso, en especial

de los márgenes de la extensión, dado que el mayor tamaño de los agregados puede llevar a que éstos se vean desplazados.

La causa de la aglutinación no ha sido del todo dilucidada. Se hipotetiza que pueda ser debido a que haya antígenos de la superficie celular que se descubran en presencia de EDTA (*criptoantígenos*), y frente a los que una crioaglutinina IgM, sólo activa en frío, desencadene una reacción de leucoaglutinación.

Existen diversos hallazgos que apoyan esta hipótesis: Se ha descrito en ocasiones en conjunción junto con una crioaglutinina IgM a alto título con especificidad anti-i. Además, generalmente artefacto a se resuelve al calentar la muestra o al utilizar citrato en lugar de EDTA como anticoagulante. También se ha descrito la resolución de los agregados al añadir kanamicina a la muestra.



**Figura 3.** Ejemplo más claro de detección de agregados de neutrófilos en el gráfico de dispersión. Imagen A: Gráfico normal. Imagen B y C: Se observa una pérdida de complejidad de la población de neutrófilos, que el analizador interpreta como población de monocitos o de linfocitos, respectivamente. Tomada de: Chen et al., 2018.

Es fundamental ser capaz de identificar este artefacto, dado que de considerar real la neutropenia, se pueden llevar a cabo pruebas innecesarias, como la realización de una biopsia de médula ósea, o la instauración de medidas terapéuticas como la administración de G-CSF o antibioterapia de mayor espectro.

#### BIBLIOGRAFÍA

- Andersen CL, Tesfa D, Siersma VD, et al. Prevalence and clinical significance of neutropenia discovered in routine complete blood cell counts: a longitudinal study. *J Intern Med* 2016; 279:566.
- Approach to the adult with unexplained neutropenia. Berliner N. UpToDate. Feb 2023. [https://www.uptodate.com/contents/approach-to-the-adult-with-unexplained-neutropenia?search=neutropenia%20diagnfebrilosis&source=search\\_result&selectedTitle=2~150&usage\\_type=default&display\\_rank=2](https://www.uptodate.com/contents/approach-to-the-adult-with-unexplained-neutropenia?search=neutropenia%20diagnfebrilosis&source=search_result&selectedTitle=2~150&usage_type=default&display_rank=2)
- Boxer LA. How to approach neutropenia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2012; 2012:174.
- Chen L, Xu X, Zhang Y, Peng J, Zhou K, Wang J, et al. Detection of EDTA-induced pseudo-leukopenia using Automated Hematology Analyzer with VCS Technology. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2018;56(8).
- Dale DC et al. Cyclic and chronic neutropenia. *Cancer Treat Res*. 2011;157:97-108.
- Donadieu J, Fenneteau O, Beaupain B, et al. Congenital neutropenia: diagnosis, molecular bases and patient management. *Orphanet J Rare Dis* 2011; 6:26
- Nikiphorou E, de Lusignan S, Mallen C, et al. Haematological abnormalities in new-onset rheumatoid arthritis and risk of common infections: a population-based study. *Rheumatology (Oxford)* 2020; 59:997.
- Yenson PR, Fleming A, Kaikov Y, Wadsworth LD. Combined neutrophil and erythrocyte agglutination in a 7-year-old boy. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*. 2007;29(9):664–5.

# 31 - NEOPLASIA DE CÉLULAS DENDRÍTICAS PLASMOCITOIDES BLÁSTICAS

**Autores:** Daniel Gil Alós, María Sánchez Tabernero, Irene Zamanillo Herreros.

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

**Palabras clave:** Leucemia, células dendríticas.

## 1. INTRODUCCIÓN

La neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas (NCDPB) se trata de una enfermedad muy poco frecuente con una importante tasa de error diagnóstico dada la baja sospecha clínica y la presentación similar a otras enfermedades. Como en muchas neoplasias hematológicas, es clave un diagnóstico temprano para ofrecer a los pacientes un tratamiento precoz e intensivo que busque la remisión completa de la enfermedad. Sin embargo, la mediana de edad al diagnóstico de esta enfermedad es de 70 años, lo cual limita el acceso a trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos, que sería la consolidación recomendable en primera línea para pacientes candidatos.

## 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

### 2.1 Motivo de consulta:

En junio de 2022, el paciente consulta a su médica de atención primaria por hallazgo de lesiones eritematosas distribuidas por el tronco, pruriginosas, sin cambios medicamentosos recientes. No refiere otra clínica asociada, negando a la anamnesis dirigida sintomatología constitucional.

### 2.2 Antecedentes personales:

Entre los antecedentes personales, destacan:

- Diabetes mellitus 2, hipertensión arterial, dislipemia, tabaquismo no activo.
- Esplenectomía por traumatismo (1993).
- Ictus isquémico hemisférico cerebeloso derecho (2007).
- Tromboembolismo pulmonar agudo periférico (2020).
- Hipertensión pulmonar ligera (2020).
- Esteatosis hepática (2020).

### 2.3 Antecedentes familiares:

El paciente no presenta antecedentes familiares de interés.

### 2.4 Enfermedad actual:

En junio de 2022, el paciente es derivado a consultas de Dermatología del Hospital de Móstoles por progresión de las lesiones, presentándose en forma de placas infiltradas eritematovioláceas de aspecto monomorfo y distribución de predominio en tronco pero con afectación también en miembros y a nivel facial. No presenta adenopatías ni

clínica constitucional asociada, únicamente prurito sobre las lesiones cutáneas. Tras un diagnóstico inicial de micosis fungoide se inicia tratamiento con PUVA en su centro de referencia, presentando una mejoría inicial. Posteriormente, aparecen nuevas lesiones cutáneas y empeoran las previas con aparición de tumoraciones y nódulos eritematovioláceos de hasta 4 cm de diámetro, por lo que es derivado para valoración por Dermatología en nuestro centro.

### 2.5 Exploración física.

El paciente se encuentra en todo momento consciente, orientado en las tres esferas y colaborador. La exploración física no presenta alteraciones reseñables salvo la presencia de lesiones cutáneas mencionadas previamente, en forma de extensas placas infiltradas y nódulos distribuidos por tronco y zona pélvica anterior, con extensión de zona eritematosa hasta hacerse prácticamente confluyente (Figura 1). La exploración neurológica resulta normal.

## 3. INFORME DEL LABORATORIO



**Figura 1.** Lesiones cutáneas del paciente en la primera valoración en consulta de Hematología.

### 3.1 Hospital Universitario de Móstoles:

- Anatomía patológica biopsia de piel (Julio/2022): Micosis Fungoide. Infiltrado linfoide en banda sin epidermotropismo. Linfocitos pequeños y medianos.

Atipia moderada. CD4+, CD8 escaso. Pérdida de CD5 y CD7. CD30 negativo. Ki67 40%.

- Análítica sanguínea (Agosto/2022): 16.030 leucocitos/ $\mu$ L (9.880 neutrófilos/ $\mu$ L, 2.830 monocitos/ $\mu$ L), 275.000 plaquetas/ $\mu$ L, PCR 23,5 mg/dL.
- Estudio de médula ósea (Agosto/2022): material escaso. No consta porcentaje de monocitos en el medulograma. No hay infiltración por linfoma. Cambios de aspecto reactivo. Citometría: no hay infiltración por linfoma. Biología molecular: reordenamiento TCR policlonal.
- Estudio de sangre periférica (Diciembre/2022): Frotis: sin presencia de células atípicas. Citometría: no presenta datos de leucemia mielomonocítica crónica ni micosis fungoide. Biología molecular: reordenamiento del TCR oligoclonal.

### 3.2 Hospital Universitario 12 de Octubre:

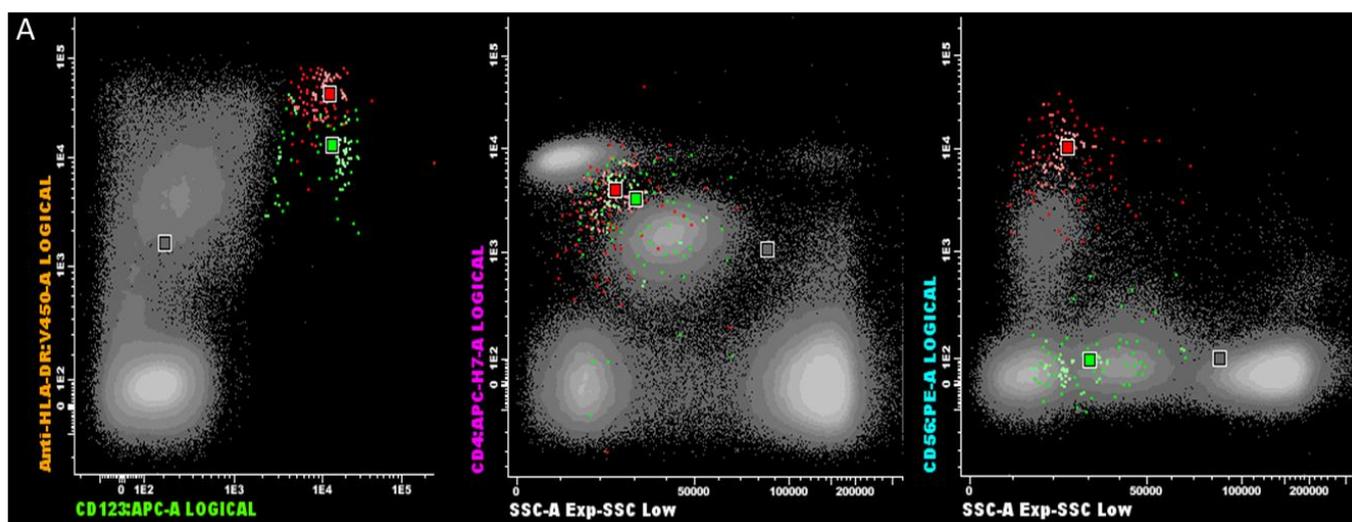
- Anatomía patológica biopsia cutánea (Diciembre/2022): ocupación difusa de la dermis reticular, respetando la dermis papilar y la epidermis. Células blásticas de pequeño tamaño, citoplasma escaso y núcleos grandes irregulares con cromatina grumosa y abundantes figuras de mitosis. IHQ: se expresan CD43, CD4, CD56, CD123 y BCL2. Conclusión: Neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas.
  - Citometría de flujo sangre periférica (Enero/2023): 0,234% de células dendríticas siendo el 17% (0,039%) patológicas con expresión de CD4+ CD56+, compatible con expresión periférica (Figura 2).
  - Análítica sanguínea (Diciembre/2022): Hemoglobina 13.7g/dL, Plaquetas 22.6000/ $\mu$ L, Leucocitos 7.500/ $\mu$ L, Neutrófilos 3.800/ $\mu$ L, Linfocitos 2.300/ $\mu$ L, Monocitos 1.300/ $\mu$ L.
- A nivel bioquímico presenta una función renal

conservada (Creatinina 0,6 mg/dL) y un perfil hepático sin alteraciones.

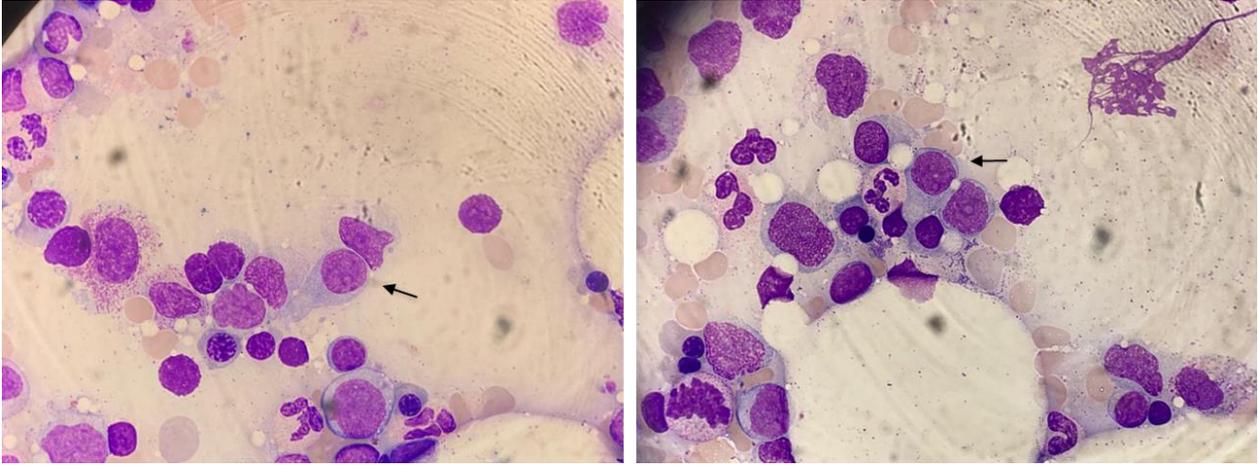
- Estudio de médula ósea (Enero/2023):
  - Citomorfología: se observan aisladas células de hábito blástico monocitoide (1%) con citoplasma amplio basófilo, sugestivo de infiltración por neoplasia de células dendríticas (Figura 3).
  - Citometría de flujo: se evidencia un 1,5% de infiltración por células dendríticas patológicas (CD123+, CD56++, HLA-, DR++, CD4+, CD33+d, CD7+, NG2+ (Figura 4).
  - Anatomía Patológica: presencia de aislados agregados de células de tamaño intermedio, citoplasma escaso y núcleo de contorno irregular y cromatina fina de aspecto blástico. Estas células son CD123+ y suponen el 5% de la celularidad medular. Además, coexpresan CD4, CD56, HLA-DR, CD7, BCL2 y son negativas para CD34.
  - Biología Molecular: se detectan dos variantes patogénicas en *TET2* (frecuencia alélica del 31% y 44%) y una variante probablemente patogénica en *ASXL1* (frecuencia alélica del 38%), lo que indica clonalidad en la hematopoyesis y apoya el diagnóstico.

### 4. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

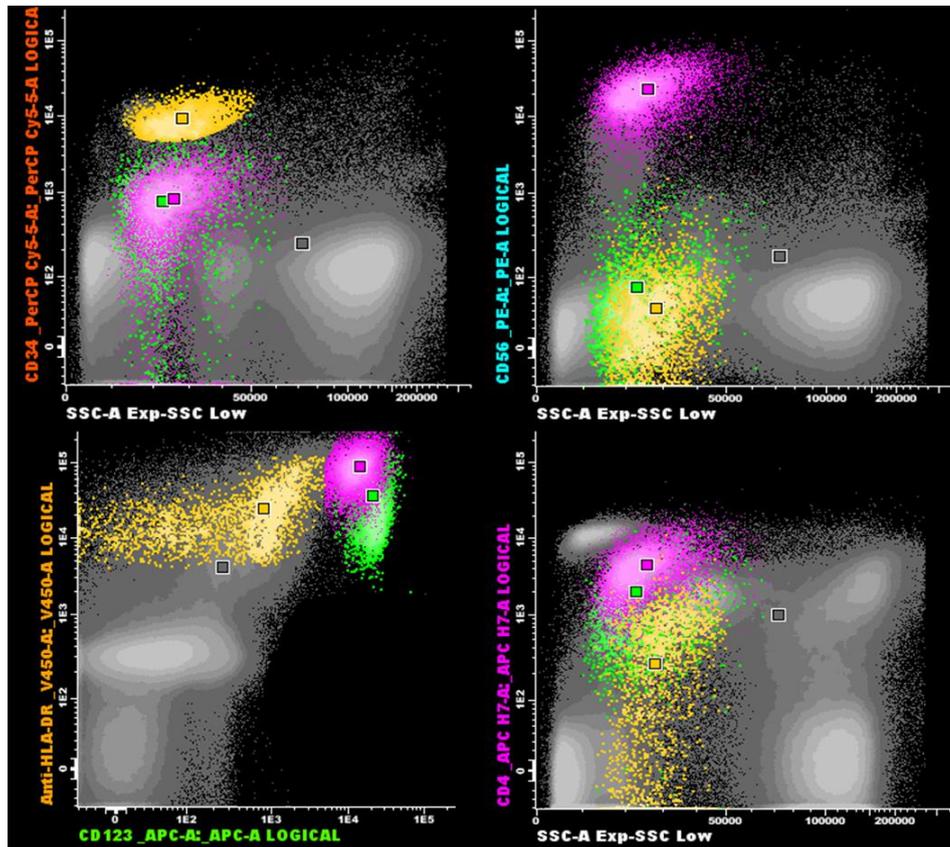
- TC tórax agosto/2022: adenopatías múltiples en región cervical que impresionan de reactivas.
- RMN craneal enero/2023: lesión en convexidad superior de hemisferio cerebeloso derecho de probable etiología isquémica. No se observan lesiones sugestivas de afectación tumoral.



**Figura 2.** Gráficas correspondientes al análisis por citometría de flujo en sangre periférica. Se puede observar la expresión en sangre periférica de células dendríticas circulante (en rojo y verde), que son positivas para CD123, HLA-DR y CD4. El marcador CD56 nos ayuda a distinguir la población patológica (en rojo, CD56+) de la sana (en verde, CD56-). Elaboración propia.



**Figura 3.** Imágenes correspondientes a la citología óptica del aspirado de médula ósea. Las flechas señalan unas células de tamaño intermedio con núcleo excéntrico, redondeado y cromatina laxa con un nucléolo prominente, de citoplasma basófilo amplio con prolongaciones citoplasmáticas en forma de pseudópodos, correspondientes con las células dendríticas plasmocitoides blásticas. Elaboración propia.



**Figura 4.** Gráficas correspondientes al análisis por citometría de flujo en el aspirado de médula ósea. Se distingue la población de precursores hematopoyéticos CD34+, HLA-DR+ y CD123+d (en amarillo), de las células dendríticas en médula ósea (rosa y verde) que son CD34-, HLA-DR+ y CD123+, además de CD4+. De nuevo, CD56 nos permite diferenciar las células dendríticas patológicas (CD56+, en rosa) de las células dendríticas sanas (CD56-, en verde). Elaboración propia.

- PET-TC enero/2023: lesiones cutáneas nodulares metabólicamente patológicas compatibles con neoplasia maligna. Metabolismo heterogéneo con múltiples focos hipercaptantes en médula ósea que

sugieren infiltración maligna. Adenopatías cervicales y axilares bilaterales sospechosas de malignidad.

- Ecocardiograma enero/2023: Fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) conservada. No presenta valvulopatías u otras alteraciones.

## 5. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Teniendo en cuenta además de la clínica y las pruebas radiológicas, los hallazgos presentes en la biopsia de piel, la citometría de flujo en sangre periférica y el estudio de médula ósea, el diagnóstico definitivo es de neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas.

## 6. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

En el diagnóstico diferencial de esta patología se incluyen fundamentalmente otras neoplasias hematológicas como la micosis fungoide / síndrome de Sézary, el linfoma T cutáneo primario tipo NOS o la leucemia mieloide aguda con expresión cutánea y leucemia mieloide aguda con expansión de células dendríticas plasmocitoides.

Estas entidades pueden llegar a ser indistinguibles por su presentación clínica, por lo que resulta de vital importancia el papel del laboratorio en su diagnóstico. De este modo, la NCDPB puede presentar una morfología muy característica a nivel de médula ósea o sangre periférica, donde es típica la presencia de células de mediano tamaño con prolongaciones citoplasmáticas tipo pseudópodos y cromatina laxa con nucléolo. También es muy importante tener esta entidad en cuenta en el diagnóstico diferencial para emplear marcadores de células dendríticas en el por citometría de flujo y/o por inmunohistoquímica, como son fundamentalmente CD123, HLA-DR, CD4 y CD56.

De tal modo, en este caso el paciente se orienta inicialmente como una micosis fungoide y todos los estudios de laboratorio (inmunohistoquímica, citometría, molecular) van en la línea de los síndromes linfoproliferativos, hasta que la mala evolución tras el tratamiento inicial plantea una reenfoque del caso orientándose finalmente hacia el diagnóstico correcto de neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas.

Es muy importante un diagnóstico adecuado y precoz, ya que tanto el pronóstico como el tratamiento a escoger varían de forma muy importante entre las entidades descritas.

## 7. EVOLUCIÓN

Una vez establecido el diagnóstico definitivo se completó el estudio de extensión.

Con respecto al tratamiento se solicita el fármaco dirigido contra CD123, Tagraxofusp, pero dadas las dificultades iniciales para conseguir este fármaco y la rápida progresión de las lesiones cutáneas, se decide ingreso para iniciar tratamiento quimioterápico con el esquema Hyper-CVAD. Se administra un primer ciclo en Febrero/2023 con buena tolerancia y presentando una muy buena respuesta con aplanamiento de las lesiones cutáneas con tendencia a hiperpigmentación (Figura 5).

Como complicaciones destacan un ingreso por neutropenia febril tras el primer ciclo de quimioterapia, sin aislamientos microbiológicos, y una hiponatremia en contexto de un SIADH asociado a toxicidad neurológica por vincristina.



**Figura 5.** Lesiones cutáneas del paciente tras haber recibido un primer ciclo de tratamiento (quimioterapia con esquema HyperCVAD).

Actualmente se encuentra en tratamiento con Tagraxofusp, que inició en Marzo/2023, presentando como complicaciones elevación de transaminasas y trombocitopenia, ambos efectos adversos frecuentes descritos con el empleo de este fármaco.

## 8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

La NCDPB es una entidad propia reconocida en la clasificación de neoplasias hematológicas de la OMS 2022. Es muy infrecuente, con una mediana de edad al diagnóstico de 70 años y una supervivencia estimada de 12 a 18 meses desde el inicio de los síntomas.

Los órganos más frecuentemente afectados son la piel, la médula ósea con frecuente leucemización y los ganglios linfáticos. De este modo la presentación clínica más habitual es la presencia de lesiones cutáneas y puede acompañarse de citopenias y de adenopatías en cualquier localización. Con menor frecuencia también puede presentar afectación del sistema nervioso central.

Parece que esta neoplasia se origina en células dendríticas plasmocitoides de estirpe mieloide, con un incremento en la expresión de BCL2, en genes relacionados con la vía de señalización de Notch y una activación aberrante de la vía NFkB.

En cuanto al diagnóstico, a nivel morfológico las células dendríticas plasmocitoides presentan una morfología

característica con prolongaciones citoplasmática en forma de pseudópodos y núcleo de cromatina laxa con nucléolo. En el inmunofenotipo es características la expresión intensa de CD123, junto con positividad para HLA-DR, CD4 y CD56. A nivel molecular el gen que está mutado con mayor frecuencia es *TET2*, seguido de *ASXL1* y genes de la familia RAS.

Es importante incluir esta entidad en el diagnóstico diferencial de los tumores cutáneos ya que por su baja incidencia es habitual que se produzcan retrasos diagnósticos con las posibles consecuencias negativas que pueden surgir de la demora en el inicio de tratamiento.

Con respecto al tratamiento, las aproximaciones más habituales hasta la fecha consisten en esquemas de quimioterapia similares a los empleados en leucemia linfoblástica aguda, como por ejemplo el Hyper-CVAD. Estos tratamientos suelen presentar una buena tasa de respuestas, aunque la duración de las mismas suele ser breve por lo que sería necesario consolidar la respuesta con un trasplante de precursores hematopoyéticos alogénico o, en los pacientes no candidatos al mismo, un trasplante autólogo.

No obstante, teniendo en cuenta que esta enfermedad suele diagnosticarse en pacientes en torno a los 70 años el trasplante de precursores hematopoyéticos no se puede llevar a cabo en un número importante de pacientes por lo que resulta fundamental el desarrollo de tratamientos eficaces y tolerables que permitan mantener una respuesta más duradera en estos casos. En esta línea ha sido aprobado por la FDA recientemente el Tagraxofusp, un fármaco dirigido contra la diana CD123 que se expresa de forma abundante en las células dendríticas. Este fármaco es una proteína de fusión que consta de una molécula de

IL-3 (ligando natural de CD123) que lleva unida una toxina diftérica truncada. Se ha demostrado como un fármaco eficaz y con una toxicidad razonable, donde el efecto adverso más característico es el síndrome de *leak* capilar.

Actualmente hay varios ensayos clínicos en desarrollo que exploran la combinación de Tagraxofusp con hipometilantes, como Azacitina, e inhibidores de BCL2 como Venetoclax. Además del Tagraxofusp también hay otras terapias dirigidas contra CD123 que se están desarrollando, como anticuerpos monoclonales conjugados, anticuerpos biespecíficos o CAR-T anti-CD123. Estas opciones pueden suponer una esperanza de tratamiento en el futuro próxima para una patología tan infrecuente y de tan mal pronóstico como es la NCDPB.

## BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Pemmaraju N, Lane AA, Sweet KL, Stein AS, Vasu S, Blum W, Rizzieri DA, Wang ES, Duvic M, Sloan JM, Spence S, Shemesh S, Brooks CL, Balsler J, Bergstein I, Lancet JE, Kantarjian HM, Konopleva M. Tagraxofusp in Blastic Plasmacytoid Dendritic-Cell Neoplasm. *N Engl J Med*. 2019 25;380(17):1628-1637.
- Khoury JD. Blastic Plasmacytoid Dendritic Cell Neoplasm. *Curr Hematol Malig Rep*. 2018;13(6):477-483.
- Adimora IJ, Wilson NR, Pemmaraju N. Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm (BPDCN): A promising future in the era of targeted therapeutics. *Cancer*. 2022 15;128(16):3019-3026.

## 32 - SÍNDROME HEMOFAGOCÍTICO SECUNDARIO A INFECCIÓN POR VIRUS EPSTEIN-BARR

**Autores:** Maialen Palomino Alonso\*<sup>1</sup>, Guillermo Ramos Moreno\*<sup>2</sup>, Sandra Gómez Rojas<sup>2</sup>.

*\*Ambos autores han colaborado de forma equitativa en la redacción del texto.*

<sup>1</sup>Servicio de Bioquímica y Análisis Clínicos, Hospital Universitario 12 de octubre, Madrid.

<sup>2</sup>Servicio de Hematología y Hemoterapia, Hospital Universitario 12 de octubre, Madrid.

**Palabras clave:** Hemofagocitosis, VEB.

### 1. INTRODUCCIÓN

El síndrome hemofagocítico o linfohistiocitosis hemofagocítica (HLH) es una enfermedad infrecuente y grave, que presenta una mortalidad elevada. Se caracteriza por un estado hiperinflamatorio sistémico asociado a la sobreproducción de citoquinas.

Entre las causas se encuentran las primarias de origen genético, o secundarias a infecciones, neoplasias, tratamiento farmacológico o enfermedades autoinmunes.

El diagnóstico en ocasiones es complejo, requiriendo de la combinación de diversos síntomas clínicos junto con pruebas de laboratorio, por lo que requiere un equipo multidisciplinar.

### 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

#### 2.1 Motivo de consulta:

Dolor abdominal.

#### 2.2 Antecedentes personales:

Niño sano, natural de Perú, nacido en España. No presenta ingresos ni cirugías previas y con el calendario vacunal al día. Sin alergias conocidas.

#### 2.3 Antecedentes familiares:

No hay descritos antecedentes familiares de interés.

#### 2.4 Enfermedad actual:

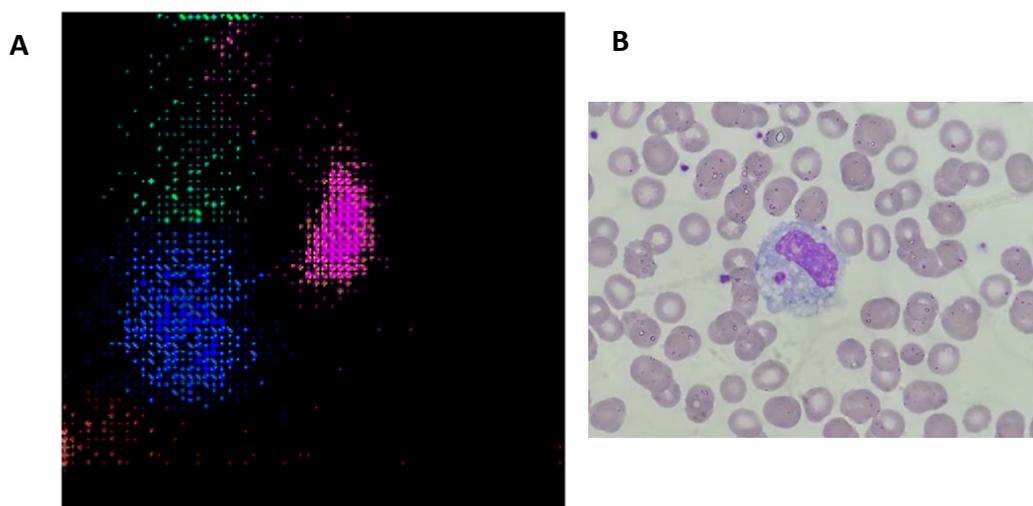
Niño de 7 años de edad que acude a Urgencias el 7 de junio de 2022 por fiebre de hasta 38°C de tres días de evolución, asociado a dolor abdominal localizado en mesogastrio y que no mejora tras la analgesia administrada. No presenta alteraciones del tracto gastrointestinal. No clínica catarral, odinofagia, ni clínica miccional. Fue valorado el día anterior en Urgencias por mismo cuadro, y finalmente fue dado de alta en ausencia de signos clínicos de gravedad, siendo diagnosticado de viriasis.

#### 2.5 Exploración física:

Durante la exploración física se determina un peso de 30,2 kg y presenta una temperatura de 37,8°C.

Triángulo de evaluación pediátrica (apariencia, respiración y circulación) estable. En general con buen estado general. Bien hidratado, nutrido y perfundido. Buena coloración de piel y mucosas. No se observan exantemas ni petequias y tampoco hay signos de dificultad respiratoria.

Durante la exploración del abdomen, éste es blando, depresible, y el paciente no refiere dolor a la palpación.



**Figura 1.** A) Gráfico de dispersión (DxH900 Beckman Coulter) donde se observa una distribución anómala de las poblaciones leucocitarias. B) Imagen de hemofagocitosis en sangre periférica, donde se aprecia un macrófago vacuolado fagocitando una plaqueta.

Elaboración propia.

Tanto el signo de Blumberg (dolor con la descompresión brusca del abdomen en fosa ilíaca derecha) como el del psoas (hiperextensión de cadera derecha provocando dolor) son negativos, no siendo sugestivo de apendicitis. No se aprecian masas ni visceromegalias

### 3. INFORME DEL LABORATORIO

A su llegada urgencias se le extraen diversas analíticas y muestra de orina para su estudio.

La bioquímica sanguínea (Tabla 1) muestra disminución iónica a nivel de sodio, cloro y fósforo. Destaca leve alteración mixta del perfil hepático, con hiperbilirubinemia. Presenta además elevación de la lactato deshidrogenasa y de la proteína C reactiva. Función renal conservada.

A nivel hematológico (Tabla 1) sorprende una pancitopenia importante. En la revisión del gráfico de dispersión (DxH900 de Beckman Coulter) de las poblaciones leucocitarias, se aprecia una distribución anómala de las mismas (Figura 1A)

con las nubes de linfocitos y monocitos desplazadas hacia arriba por aumento de tamaño. En la observación del frotis de sangre periférica al microscopio, se confirma la pancitopenia junto a una serie blanca con linfocitos de aspecto activado, cromatina madura y citoplasma azurófilo. Además, se observa una imagen de hemofagocitosis de un macrófago fagocitando una plaqueta (Figura 1B). Se trataba de un frotis de características reactivas, y debido a la observación de una imagen indicativa de hemofagocitosis, había que descartar un síndrome de activación macrofágica.

Los hemocultivos extraídos fueron negativos y las pruebas PCR en exudado nasofaríngeo para virus (Influenza A y B, virus respiratorio sincitial, metapneumovirus, parainfluenza, rinovirus, adenovirus y SARS-CoV-2) y la antigenuria de *Leishmania* también resultaron negativas.

El análisis de orina resultó anodino, con ligera proteinuria pero sin alteraciones microscópicas.

Prueba	Resultado	Valores de referencia
Glucosa (mg/dL)	108	60 – 100
Creatinina (mg/dL) Filtrado Glomerular (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	0,39 >90	0,40 – 060
Sodio (mEq/L)	127	136 – 145
Potasio (mEq/L)	4,27	3,50 – 5,10
Cloro (mEq/L)	96	98 – 107
Fósforo (mg/dL)	2,2	3,0 – 5,4
Calcio (mg/dL)	8,1	8,8 – 10,4
Calcio corregido por albúmina (mg/dL)	8,8	
Proteínas totales (g/dL)	5,3	6,0 – 8,0
Albúmina (g/dL)	3,3	3,8 – 5,4
ALT (GPT) (U/L)	190	5 – 39
AST (GOT) (U/L)	161	5 – 33
Gamma-GT (U/L)	134	8 – 61
Fosfatasa Alcalina (U/L)	404	40 – 300
LDH (U/L)	830	120 – 300
Proteína C Reactiva	3,84	0,10 – 0,50
Hematíes (10 <sup>6</sup> /μL)	3,73	4,00 – 5,20

<b>Hemoglobina (g/dL)</b>	<i>10,9</i>	11,5 – 15,5
<b>Plaquetas (10<sup>3</sup>/μL)</b>	<i>54</i>	180 – 400
<b>Leucocitos (10<sup>3</sup>/μL)</b>	<i>1,1</i>	7,3 – 11,3
<b>Neutrófilos (10<sup>3</sup>/μL)</b>	<i>0,5</i>	2.0 – 8.0
<b>Linfocitos (10<sup>3</sup>/μL)</b>	<i>0,5</i>	1.0 – 5.0
<b>Monocitos (10<sup>3</sup>/μL)</b>	<i>0,1</i>	0,2 – 1.0

**Tabla 1.** Resultados más destacables de la primera analítica sanguínea a su llega a urgencias.  
En cursiva, resultados fuera del rango de referencia.

Tras tratamiento hídrico y analgesia, se le realiza nueva extracción sanguínea con resultados similares a los anteriores, y ampliación de la determinación de

procalcitonina que se encontraba bastante elevada (2,09 ng/mL) y de triglicéridos dentro de rango de referencia (184 mg/dL).

En estudio de coagulación leve coagulopatía con actividad de protrombina del 73%, sin alteración en tiempo de cefalina y con fibrinógeno derivado normal (no se realiza fibrinógeno coagulativo en primera determinación).

#### 4. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

Como exploraciones complementarias a nivel bioquímico, además del seguimiento iónico y de enzimas hepáticas, se analizaron los niveles de triglicéridos y de ferritina para diagnóstico y para estudiar la evolución clínica (Tablas 2 y 3). Ambos parámetros comienzan a elevarse alcanzando su máximo hacia el 12-13 de junio (715 mg/dL y 8273 ng/mL respectivamente) y posteriormente van descendiendo hasta normalizarse.

Por otro lado, para filiar el origen de la alteración hepática, se realiza estudio de serológico. Los virus de hepatitis A y B y citomegalovirus resultaron negativos. La serología para

virus Epstein-Barr (EBV) muestra infección reciente, con presencia de anticuerpos IgM anti-VCA junto con anticuerpos IgG anti-VCA. Los anticuerpos IgG anti-EBNA fueron negativos.

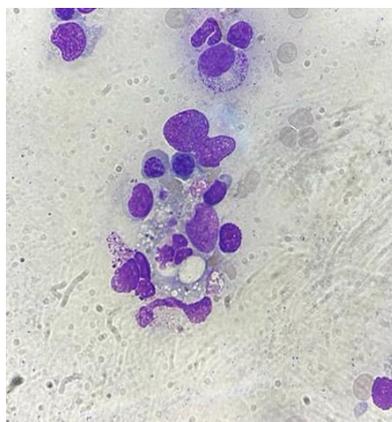
Con serología sugestiva de infección reciente por EBV, se determina la carga viral del mismo, mostrando marcada elevación con 6.997.446 165 UI/mL al diagnóstico.

Se realiza biopsia/aspirado de médula ósea para ampliar el estudio de la pancitopenia y apoyar el diagnóstico. En el análisis citológico destaca una médula ósea hiper celular, con aumento de macrófagos y abundantes imágenes de hemofagocitosis (Figura 2).

La citometría de flujo muestra predominio de la población TCD8 (27,5%), con aumento de su tamaño. No se encontraron datos sugestivos de clonalidad.

En el estudio por Anatomía Patológica en biopsia osteomedular, informan de médula ósea con linfocitosis T CD8+ de aspecto reactivo e imágenes de hemofagocitosis. Se amplía el estudio de hibridación in situ del virus de Epstein-Barr, siendo positivo.

Para conocer si hubiera susceptibilidad genética al HLH se realizó un estudio mediante secuenciación masiva del



**Figura 2.** Imagen de hemofagocitosis hallada en el estudio de médula ósea.  
Elaboración propia.

Prueba	FECHAS (2022)										
	07/06	08/06	09/06	10/06	11/06	12/06	13/06	14/06	15/06	17/06	12/08
<b>Triglicéridos</b> [ 50 - 200 mg/dL]	184	231	319	463	638	715	605	409	372	188	90

**Tabla 2.** Resultados evolutivos de la concentración de triglicéridos. En cursiva, resultados fuera del rango de referencia. Elaboración propia.

Prueba	FECHAS (2022)					
	07/06	10/06	13/06	23/06	26/07	12/08
<b>Ferritina</b> [20 – 200 ng/mL]	1990	7713	8273	318	34	44

**Tabla 3.** Resultados evolutivos de la concentración de ferritina. En cursiva, resultados fuera del rango de referencia. Elaboración propia

exoma completo, filtrando el análisis para los genes incluidos en el panel de Inmunodeficiencias (452 genes).

No se identificó ninguna variante claramente patogénica en los genes estudiados que justifique el cuadro clínico. Tampoco identificaron variantes en el número de copia (CNVs) claramente patogénicas en los genes analizados.

## 5. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

El paciente fue finalmente diagnosticado de linfocitosis hemofagocítica (HLH) secundaria a primoinfección por virus de Epstein-Barr.

## 6. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Paciente de 7 años que acude con fiebre, elevación de transaminasas, pancitopenia y leve disfunción hepática.

- Linfocitosis hemofagocítica.
- Proceso linfoproliferativo con infiltración medular.
- Leishmaniasis visceral (Kala-Azar).

## 7. EVOLUCIÓN

Con el diagnóstico de HLH secundario a primoinfección de VEB, se inicia tratamiento corticoideo con dexametasona 10 mg/m<sup>2</sup>, asociando rituximab 375mg/m<sup>2</sup> como dosis puntual para frenar la replicación del VEB. La carga viral se negativiza a la semana del tratamiento con rituximab (límite de detección de la técnica 165 UI/mL).

Tras la instauración de tratamiento se produce desaparición de la fiebre y progresiva normalización de los parámetros analíticos.

Tras un mes de corticoterapia a dosis plenas se inicia descenso progresivo de la dosis. Coincidiendo con descenso de la corticoterapia, presenta nuevamente neutropenia profunda (0,2 x10<sup>3</sup>/μL) y elevación de transaminasas (ALT, AST y GGT con 180, 67 y 129 U/L

respectivamente), por lo que se reintroduce nuevamente dexametasona, con mejoría de las cifras. Tras ello se puede retomar el descenso paulatino hasta suspensión tras 4 meses de corticoterapia.

## 8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

La HLH es una enfermedad infrecuente que afecta más comúnmente a la edad pediátrica. Se deriva de una activación descontrolada de los linfocitos T citotóxicos y de los macrófagos, que llevan a lesión tisular y a fracaso multiorgánico secundarios a la hiperinflamación y a la infiltración tisular por las células activadas. Es importante distinguir el diagnóstico de HLH de las imágenes de hemofagocitosis, que pueden verse de forma secundaria a trasfusiones, linfomas o infecciones, entre otros.

### 8.1 Causas:

Dentro de las causas de la HLH se encuentran las primarias, asociadas a un origen genético de herencia autosómica recesiva, o adquiridas, secundarias a infecciones, neoplasias, tratamiento farmacológico o enfermedades autoinmunes.

La forma primaria de HLH familiar o genética, es de herencia autosómica recesiva y se clasifica en 5 subtipos diferentes según el gen asociado.

- Tipo 1 es causado por un defecto genético en el cromosoma 9, pero no se conoce el gen responsable.
- Tipo 2 se debe a mutaciones en el gen *PRF1*.
- Tipo 3 es causado por mutaciones en el gen *UNC13D*.
- Tipo 4 se debe a mutaciones en el gen *STX11*.
- Tipo 5 se debe a mutaciones en el gen *STXBP2*.

Se conoce que un 40-60% de los casos familiares son causados por mutaciones en el gen *PRF1* o *UNC13D*. Los restantes se asocian a variantes *STX11* y *STXBP2* o por causas que todavía se desconocen. La ausencia de un diagnóstico genético no excluye las formas primarias

Además de las formas familiares, en la HLH primaria hay descritos casos derivados de una respuesta inmune inadecuada al virus de Epstein-Barr fundamentalmente, aunque también se asocian otras viriasis. Se debe a una enfermedad genética denominada enfermedad linfoproliferativa ligada al cromosoma X (XLP), causada por mutaciones en el gen *SH2D1A* y *BIRC4* con herencia ligada al cromosoma X

Por otro lado, la forma secundaria es una forma adquirida vinculada a diversas infecciones (virus sobre todo, pero también bacterias, micoplasmas, hongos, parásitos), trasplantes, cáncer; enfermedades reumatológicas y fármacos

### 8.2 Signos y síntomas:

Como signos y síntomas asociados a la enfermedad se encuentran:

- Fiebre persistente, a menudo alta asociado a proceso infeccioso, generalmente vírico que actúa como desencadenante de la HLH.
- Alteraciones analíticas: citopenias, disfunción hepática, triglicéridos elevados, hiponatremia e hipalbuminemia.
- Hepatomegalia, esplenomegalia o aumento del tamaño de los ganglios linfáticos.
- Erupción cutánea.

Puede haber afectación del sistema nervioso central (SNC) en hasta un 50% de los pacientes. Estando presente desde el momento del inicio de la enfermedad o bien puede desarrollarse después. Los síntomas vinculados a afectación del SNC son variados incluyendo irritabilidad, convulsiones, fatiga, ataxia, falta de coordinación, alteración de los nervios oculares o faciales, etc.

### 8.3 Diagnóstico:

El diagnóstico en ocasiones es complicado de establecer, y requiere la combinación de ciertos síntomas y pruebas de laboratorio. Henter et al.<sup>1</sup> Establecen que debe cumplirse uno o ambos criterios para confirmar el diagnóstico de HLH:

- Diagnóstico molecular compatible con HLH (mutaciones en los genes previamente descritos (*PRF1*, *UNC13D*, *STX11*, *STXB2*, *SH2D1A*).
- Cumplir por lo menos cinco de los ocho criterios clínicos:
  - Esplenomegalia (bazo palpable > 3 cm por debajo del reborde costal).
  - Hipofibrinogenemia (<150 mg/dL) o hipertrigliceridemia (>265 mg/dL en ayunas).
  - Citopenias que comprometen 2 o más líneas celulares: plaquetas <100 x10<sup>3</sup>/μL, neutrófilos <1 x10<sup>3</sup>/μL o hemoglobina < 9 g/dL.
  - Actividad baja o ausente de células NK (*Natural Killer*).
  - Aumento de ferritina superior a 500 ng/mL.
  - Aumento de la interleucina 2 (CD25) soluble >2500 U/ml.

- Hemofagocitosis demostrada a través de biopsia de un ganglio, del bazo o de la medula ósea. Sin evidencia de malignidad.
- Fiebre prolongada.

Estos criterios, incluidos dentro del protocolo HLH 2004, son los más frecuentemente utilizados para el diagnóstico de HLH en la población pediátrica (HLH primario). Sin embargo, su sensibilidad y especificidad puede verse reducida en la población adulta. Para ello se han desarrollado otras escalas diagnósticas como HScore (desarrollado por Fardet et al.<sup>2</sup>) Además en formas secundarias a neoplasias hematológicas, donde la sintomatología del HLH puede ser superponible a la del proceso hematológico (fiebre o citopenias), se ha descrito recientemente un score sencillo, llamado *Optimized HLH Inflammatory score* (OHI score), consistente en ferritina >1000 ng/mL y CD25s > 3900U/mL, con buena capacidad diagnóstica y pronóstica del HLH asociado a neoplasia hematológica<sup>3</sup>.

### 8.4 Tratamiento:

El tratamiento debe ir enfocado en dos sentidos: frenar el "Trigger" o agente desencadenante subyacente (en este caso la infección por VEB) y frenar la sobreestimulación del sistema inmune, para lo cual se dirige tratamiento contra el linfocito T hiperestimulado<sup>4</sup>. En ese sentido, es frecuente que los tratamientos inmunosupresores incluyan etopósido (como agente eficaz para la supresión del linfocito T activado)<sup>5</sup> y dexametasona (Como agente inmunosupresor inespecífico).

Por tanto, la etiología subyacente va a cambiar el esquema de tratamiento elegido. En el caso de las formas primarias, se dispone de un protocolo de tratamiento (esquema HLH-2004), consistente en:

- Tratamiento de inducción durante las primeras 8 semanas con dexametasona, etopósido, ciclosporina (no en todos los casos) y terapia intratecal con metotrexato y prednisona.
- Tratamiento de mantenimiento con pulsos de dexametasona cada 2 semanas y etopósido semanales, (con o sin ciclosporina) hasta que se pueda realizar un trasplante alogénico.

En las formas secundarias, los tratamientos son variables y menos establecidos. En las formas secundarias a enfermedad reumatológica, se recomienda iniciar tratamiento con metilpredisolona en pulsos, asociando ciclosporina y posteriormente etopósido si existiera refractariedad<sup>6</sup>.

Si se trata de un caso secundario a infección, como en el caso que describimos actualmente, el tratamiento pasa en primer lugar por el tratamiento de la infección de base, con uso juicioso de inmunosupresión para frenar la respuesta hiperinflamatoria. En ese sentido se suelen utilizar combinaciones con dexametasona y etopósido para la inmunosupresión. En el caso de las formas secundarias a infección por VEB (el agente infeccioso más frecuentemente aislado), se suele asociar tratamiento con rituximab (anticuerpo monoclonal anti CD20, que al depleccionar la célula B, donde replica el VEB, suele reducir

la carga viral de forma rápida. Sin embargo, no existen estudios que confirmen que exista una mejora de los resultados asociado al uso de rituximab.

En los casos secundarios a neoplasia hematológica, el tratamiento pasa por el inicio de tratamiento específico para la neoplasia, si la situación clínica lo permite, o iniciar primero dexametasona y etopósido hasta la estabilización clínica previo al inicio de la quimioterapia. Para los casos refractarios al tratamiento inmunosupresor con dexametasona y etopósido se han estudiado nuevos esquemas y tratamientos, como el empleo del inhibidor de JAK-2 ruxolitinib en el esquema R-DED (ruxolitinib- doxorubicina, etopósido y dexametasona)<sup>7</sup>.

### 8.5 Pronóstico:

El pronóstico es variable dependiendo de la etiología desencadenante del HLH. En el caso del HLH primario, la inducción y mantenimiento con el esquema HLH 2004, seguido del trasplante de progenitores hematopoyéticos permite una supervivencia global a los 3 años en torno al 55%<sup>1</sup>.

En el caso de las formas secundarias a neoplásicas hematológicas, el pronóstico es generalmente mucho más limitado. Un estudio japonés estimó la supervivencia a los 5 años en los casos de HLH secundarios a linfoma T/NK torno al 12%, y en un 48% en los casos secundarios a linfoma B<sup>8</sup>.

### BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Pérez-Martínez A. Síndromes hemofagocíticos (I): concepto, clasificación, fisiopatología y clínica. 2013;11(5): 237-244. DOI: 10.1016/S1696-2818(13)70144-6
- <https://rarediseases.info.nih.gov/espanol/11880/linfosis-tiocitosis-hemofagocitica>
- <https://histio.org/histiocytic-disorders/hemophagocytic-syndromes/>

### BIBLIOGRAFÍA ESPECÍFICA

1. Henter, J.-I., Horne, A., Aricó, M., Egeler, R.M., Filipovich, A.H., Imashuku, S., et al. (2007), HLH-2004: Diagnostic and therapeutic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr. Blood Cancer*, 48: 124-131.
  2. Fardet L, Galicier L, Lambotte O, Marzac C, Aumont C, Chahwan D, et al. (2014), Development and validation of the HScore, a score for the diagnosis of reactive hemophagocytic syndrome. *Arthritis Rheumatol* 66(9):2613–2620.
  3. Zoref-Lorenz A, Murakami J, Hofstetter L, Iyer S, Alotaibi AS, Mohamed SF, et al. An improved index for diagnosis and mortality prediction in malignancy-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood*. 2022;139(7):1098–110.
  4. Schram AM, Berliner N. How I treat hemophagocytic lymphohistiocytosis in the adult patient. *Blood*. 2015;125(19):2908–14.
  5. Johnson TS, Terrell CE, Millen SH, Katz JD, Hildeman DA, Jordan MB. Etoposide selectively ablates activated T cells to control the immunoregulatory disorder hemophagocytic lymphohistiocytosis. *The Journal of Immunology*. 2014;192(1):84–91.
  6. Carter SJ, Tattersall RS, Ramanan AV. Macrophage activation syndrome in adults: Recent advances in pathophysiology, diagnosis and treatment. *Rheumatology*. 2018;58(1):5–17.
  7. Setiadi A, Zoref-Lorenz A, Lee CY, Jordan MB, Chen LY. Malignancy-associated haemophagocytic lymphohistiocytosis. *The Lancet Haematology*. 2022;9(3).
- Wang H, Xiong L, Tang W, Zhou Y, Li F. A systematic review of malignancy-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis that needs more attentions. *Oncotarget*. 2017;8(35):59977–85

## **BLOQUE VII**

---

# **MICROBIOLOGÍA Y**

# **ENFERMEDADES INFECCIOSAS**

# 33 - IDENTIFICACIÓN DE UN CASO DE MIASIS POR *Cordylobia* *Anthropophaga* EN EL LABORATORIO

**Autor:** Alba Fernández del Pozo, Cecilia Cueto-Felgueroso Ojeda.

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

**Palabras clave:** Miasis, Larva, Parasitosis.

## 1. INTRODUCCIÓN

La miasis es una parasitosis de los tejidos producida por el estado larval de dípteros, que en un sentido muy amplio incluye a moscas y mosquitos. Esta infección es causada por diversas especies y afecta principalmente a humanos y animales vertebrados.

Las zonas con mayor prevalencia de miasis son aquellas con climas tropicales y subtropicales, condiciones socioeconómicas limitadas o con falta de recursos.

Varios géneros de estas moscas son las que con mayor frecuencia pueden producir infestación en humanos, tal es el caso de *Cordylobia anthropophaga*, *Dermatobia hominis*, *Cochliomyia hominivorax*, ó *Chrysomya bezziana*.

De estas, *Cordylobia antropophaga* destaca como la causa más común de miasis foruncular en el África subsahariana. Esta mosca es conocida comúnmente como “mosca tumbu” y se caracteriza por su actividad diurna y su tendencia a depositar sus huevos no solo en suelos secos frecuentados por animales domésticos, sino en objetos a menudo utilizados por el ser humano como ropa de cama, telas o tejidos, cuando se cuelgan para secarse.

Los síntomas que con mayor frecuencia aparecen en la miasis son la inflamación local dolorosa (a menudo con una lesión con forma de pápula en el centro), el prurito, y el enrojecimiento e hinchazón en el lugar de entrada del insecto. En el caso de la mosca tumbu, el contacto con el huevo de *Cordylobia antropophaga*, situado en la superficie de la piel, es lo que provoca la infección y desencadena el resto de la sintomatología.

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.

El papel del laboratorio es esencial para el diagnóstico a nivel de género y especie.

## 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

### 2.1 Motivo de consulta:

Mujer de 28 años, que acude a la consulta de enfermedades infecciosas de nuestro centro por sospecha de parasitosis activa en el momento de la visita.

Refiere un viaje de cooperación en el África subsahariana realizado en los dos meses previos a la consulta. La paciente realizó un itinerario por varios países y residió la mayoría del tiempo en Malawi, en medio rural, consumiendo comida local y bebiendo agua hervida.

Como dato de interés menciona haberse bañado en el lago Malawi a los 15 días de su llegada al país.

Comenta que en las dos últimas semanas ha acusado una pronunciada astenia, y advertido la aparición de unas 17 pápulas en la región glútea y abdominal, siendo éstas dolorosas y posteriormente pruriginosas con salida, en ocasiones, de un líquido amarillento.

Inició tratamiento con cloxacilina en el país de origen sin mejoría, tras lo cual decidió regresar a España.

Expone que, 48 horas después de su llegada, algunas lesiones comienzan a ulcerarse, con sensación de hormigueo y movimiento bajo la piel, produciéndose de manera espontánea, la salida de larvas de aproximadamente 1 cm de tamaño de cada una de las lesiones (una por lesión).

### 2.2 Antecedentes personales:

Entre los antecedentes personales, únicamente destacan episodios y diagnóstico de asma relacionados con alergia al polen y los olivos.

La paciente no presenta hipertensión arterial crónica, dislipemias o diabetes mellitus.

No cuenta con ningún diagnóstico previo de parasitosis ni refiere ningún otro evento significativo a tener en cuenta durante su estancia en África.

### 2.3 Antecedentes familiares:

La paciente no presenta antecedentes familiares de interés.

### 2.4 Exploración física.

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

La medición de las constantes arrojó los siguientes resultados:

- Febrícula de 37,8°C.
- Tensión sistólica 118 mmHg.
- Tensión diastólica 74 mmHg.
- Frecuencia cardíaca 85 latidos/min.
- Saturación oxígeno basal 99 %.

Se muestra algo agitada y aprensiva por la sensación de hormigueo y movimiento bajo la piel que a veces, según expone, se acompaña de dolor local agudo y punzante.

Se revisan todas y cada una de las lesiones, evidenciando enrojecimiento e hinchazón en la región. De algunas de ellas se libera un líquido amarillento y sanguinolento y finalmente

se consigue extirpar de 4 de estas lesiones, larvas de diverso tamaño que se recogen debidamente para su posterior envío y análisis en el laboratorio.

Desde la consulta de enfermedades infecciosas se avisa al laboratorio de Parasitología de nuestro centro, remitiéndose las muestras obtenidas en la extracción de las lesiones de la paciente para valoración de una posible miasis.

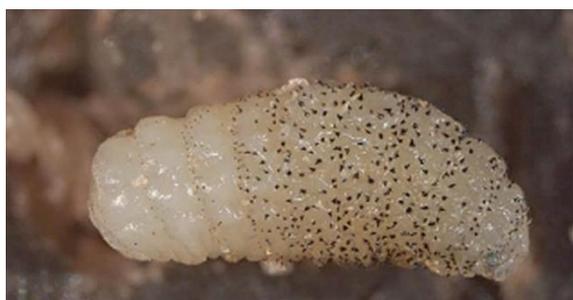
### 3. INFORME DEL LABORATORIO

En el laboratorio se realiza, en primer lugar, un estudio macroscópico en el que se observan larvas de color marrónáceo en diferente estadio y con medidas que comprenden entre 1 y 2 cm. Figura 1.



**Figura 1.** Larvas de *Cordylobia antropophaga* tras extracción de las lesiones de la paciente.

Con la finalidad de apreciar mejor estas larvas, algunas se trataron con hidróxido de potasio y se enjuagaron con agua Millipore para clarificarlas y se observaron al microscopio óptico. Figura 2.



**Figura 2.** Larva de *Cordylobia antropophaga* clarificada. Observación en microscopio óptico, objetivo 10x.

Tras esta primera observación se confirma al servicio de enfermedades infecciosas que se trata de una miasis y se queda a la espera de la realización de exámenes complementarios para poder establecer una buena filiación a nivel de género y especie.

### 4. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

Como pruebas complementarias, se solicita una analítica de sangre con perfil renal y hepático que no evidencia alteraciones.

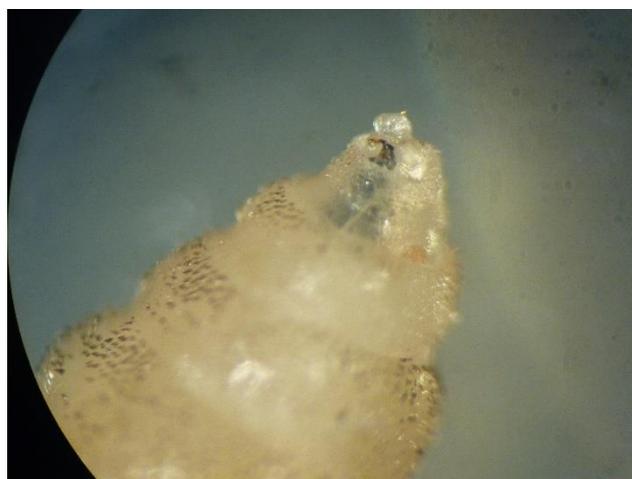
Se le solicita, asimismo:

- Serología de *Schistosoma spp* por el antecedente de riesgo del baño en el lago Malawi.
- Estudio de parásitos en heces de 3 días consecutivos.

Ambas pruebas resultan negativas.

### 5. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Se lleva a cabo un estudio más exhaustivo y se realiza un análisis detallado de las larvas, observándose ganchos bucales en el extremo cefálico y espiráculos posteriores en el extremo caudal. Figura 3.



**Figura 3.** Ganchos bucales observados en el extremo cefálico de la larva. Observación en microscopio óptico, objetivo 20x.

Tras examinación al microscopio óptico se apreciaron todos los segmentos corporales provistos de gran espinulación y los espiráculos posteriores curvados. Figura 4.

A la vista de estos elementos característicos se concluye que la especie implicada en la miasis es *C. anthropophaga* perteneciente a la familia Calliphoridae, género Cordylobia.



**Figura 4.** Espiráculos curvados en el extremo caudal de la larva. Observación en microscopio óptico, objetivo 20x.

## 6. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

El diagnóstico de miasis se realiza por el hallazgo directo de larvas de la mosca en los tejidos.

La identificación a nivel de género o especie implica la comparación de ciertas estructuras morfológicas de las larvas, incluyendo el espiráculo anterior y posterior (como se observa en las figuras 3 y 4), piezas bucales y el esqueleto cefalofaríngeo y espinas cuticulares.

Los antecedentes del viaje también pueden ser útiles para la identificación, dado que el diagnóstico diferencial, en miasis forunculares, se enfoca sobre todo a discernir si se trata de la otra especie causante: *Dermatobia hominis*, endémica de Iberoamérica.

## 7. EVOLUCIÓN

Se indica a la paciente medidas higiénicas y vigilancia de las lesiones y se le cita en los días posteriores de nuevo en consulta.

Se comprueba salida de todas las larvas de forma espontánea por cada una de las lesiones pruriginosas. Se limpia la zona afectada y se indica como proceder para continuación de los cuidados en domicilio.

Además, la paciente es tratada con una pauta de corticoides vía tópica.

Se la cita para seguimiento y revisión de las lesiones y estado general, observándose remisión de la inflamación y una buena evolución clínica.

## 8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

La miasis es la infección de los tejidos corporales de humanos o animales vertebrados por larvas de especies del orden Díptera. Esta patología está causada por diferentes especies de moscas de dos alas y se distribuye a nivel

mundial siendo responsable de importantes pérdidas económicas para la industria ganadera en todo el mundo y convirtiéndose, debido a su gran incidencia en algunas estaciones del año, en un grave problema de salud pública en las zonas afectadas.

Algunas miasis, como la producida por la otra especie responsable de esta forma foruncular, *Dermatobia hominis*, necesitan en su ciclo biológico la presencia de otros adultos artrópodos hematófagos (como los mosquitos) poniendo sus huevos encima de sus cuerpos. Las larvas de mosca se desarrollan dentro de estos huevos, permaneciendo en el vector hasta que éste pica a un hospedador. Es entonces cuando estas larvas penetran el tejido del huésped.

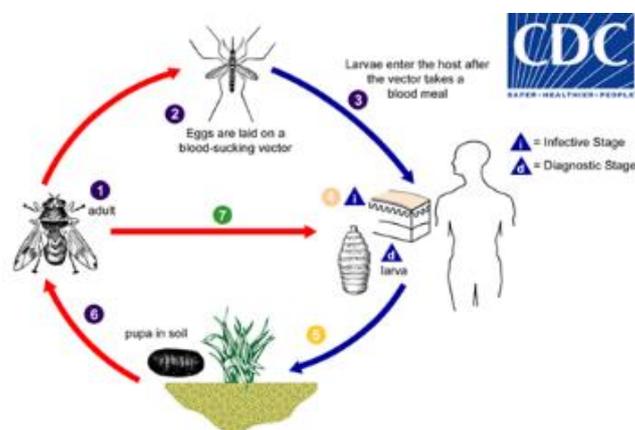
*Cordylobia antropophaga*, conocida comúnmente como mosca tumbu o "gusano de Cayor", es un díptero cuyo hábitat natural se encuentra en el continente africano, principalmente en África central y subsahariana, destacándose dentro de la familia Calliphoridae como la causa más común de miasis foruncular clínica.

En su caso, el ciclo biológico comienza con la puesta de huevos que realiza la hembra adulta (unos 100-500 huevos por puesta) preferentemente en suelos secos y arenosos frecuentados por animales ya sean salvajes o domésticos, pero también puede hacerlo sobre ropa húmeda tendida, sobre todo si se encuentra a la sombra, lo que se estima como la principal vía de entrada y salto a la especie humana.

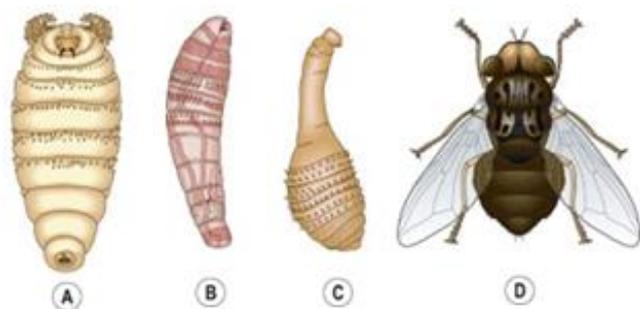
Tras esta primera fase, los huevos suelen tardar en eclosionar en torno a 2-4 días, pudiendo permanecer las larvas a la espera de un huésped ya sea humano o animal, hasta un máximo de 9-15 días.

Cuando existe un contacto estrecho, la larva que es sensible al calor y a la vibración del huésped entra en contacto con la piel, introduciéndose hasta la dermis.

El ciclo vital se completa cuando la larva de tercer estadio, tras 8 a 15 días que tarda en desarrollarse, abandona el huésped y cae al suelo, donde se transforma en pupa y posteriormente en mosca adulta.



**Figura 5.** Ciclo vital de miasis por *Dermatobia Hominis*.



**Figura 6.** Diferentes estadios de *C. anthropophaga*. (A) Larva (B) larva terciaria (C) pupa (D) mosca adulta.

La introducción de la larva es casi imperceptible para el hospedador, produciéndose en aproximadamente un minuto, siendo los lugares preferidos el abdomen, los muslos, la espalda y las nalgas.

Más tarde, la lesión adquiere un aspecto de pápula eritematosa evolucionando hasta forúnculo, con una apertura apical por la que respira la larva gracias a los espiráculos de los que dispone en su extremo caudal, y acompañándose de dolor y prurito (debido a la destrucción de tejidos provocado por la larva y a la reacción inflamatoria) y a veces también de sensación de movimiento bajo la piel.

Ocasionalmente, el cuadro clínico se puede acompañar de linfadenopatía regional, febrícula e insomnio, pero la complicación más frecuente es la sobreinfección de las lesiones por el rascado o el intento de extracción de las larvas de las lesiones sin unas condiciones adecuadas de asepsia.

La infestación por *C. anthropophaga* no tiene tratamiento específico. Las medidas van encaminadas a la eliminación completa de la larva del tejido parasitado. La extracción manual suele ser suficiente, aunque en ocasiones es necesario recurrir a la asfixia y forzar la salida de la larva tapando el orificio con vaselina u otros productos grasos que le impidan respirar. Esto fuerza la salida parcial de la larva y su posible extracción mediante pinzas. La oclusión puede mantenerse durante 24 horas o más, aunque puede ocurrir que el parásito se asfixie sin haber emergido, y entonces es necesaria la escisión quirúrgica. Puede ser necesario un tratamiento antibiótico para la infección bacteriana secundaria.

Como medidas profilácticas en viajes a países tropicales se recomienda evitar sentarse o dormir sobre terrenos en los que habitualmente se encuentren animales domésticos como perros o gatos. También es importante realizar un lavado cuidadoso de la ropa y evitar tender en planos inclinados o a la sombra, remarcando la necesidad del planchado de los tejidos por ambos lados, ya que se ha demostrado que es un método eficaz para destruir los huevos ocultos.

Como hemos comentado, en nuestro medio, los casos de miasis foruncular suelen estar causados por *C. anthropophaga* y *Dermatobia hominis*, ambas endémicas de otros continentes como África y América del Sur

respectivamente, por lo que habitualmente se trata de casos importados. El incremento de viajes a países tropicales hace que nos encontremos cada vez con mayor frecuencia con este tipo de patología, como demuestran los numerosos casos publicados en los últimos años.

Las miasis deben, por tanto, incluirse en el diagnóstico diferencial de forúnculos en pacientes que hayan realizado un viaje a países tropicales o subtropicales de estas áreas.

## 9. CONCLUSIÓN

El diagnóstico de la miasis humana es una tarea compleja debido a la presentación clínica similar a otras enfermedades de la piel.

La identificación del agente causal a nivel de género y especie es esencial para el manejo adecuado de los pacientes. La distinción y reconocimiento de las larvas se realiza por su aspecto macroscópico y por la morfología de los espiráculos posteriores, visibles a la lupa o con el microscopio óptico. Por todo ello el laboratorio desempeña un papel importante en el diagnóstico de la miasis humana.

Conocer el lugar de procedencia también orienta sobre la especie.

El diagnóstico precoz y el control adecuado de esta parasitosis son fundamentales para evitar secuelas físicas y psicológicas importantes, así como para reducir el impacto económico de la enfermedad.

## BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Fernández-Alvarez Á, Sánchez-Vicente S, Feliu C, Valladares B, Miquel J, Alves J, Melero-Alcibar R, Foronda P. Myiasis by *Cordylobia anthropophaga* (Calliphoridae) in rodents from Cape Verde. *Acta Parasitol.* 2022 Sep;67(3):1260-1264.
- Kuria SK, Oyedeji AO. Human myiasis cases originating and reported in africa for the last two decades (1998-2018): A review. *Acta Trop.* 2020 Oct;210:105590.
- Yasukawa K, Dass K. Myiasis due to *Cordylobia anthropophaga*. *Am J Trop Med Hyg.* 2020 Feb;102(2):251
- Solomon M, Lachish T, Schwartz E. Cutaneous Myiasis. *Curr Infect Dis Rep.* 2016 Sep;18(9):28.
- Ogbalu OK, Achufusi TG, Orlu EE. Epidemiology of human furuncular myiasis of *Cordylobia anthropophaga* (Grunberg) in Nigeria. *Int J Dermatol.* 2013 Mar;52(3):331-6.
- Martín L, Bermúdez P, Sanz A, Martín S. Lesiones forunculoides en espalda y pierna [Furunculoid lesions on the back and leg]. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2003 Nov;21(9):509-10.
- Alkorta Gurrutxaga M, Beristain Rementeria X, Cilla Eguiluz G, Tuneu Valls A, Zubizarreta Salvador J. Miasis cutánea por *Cordylobia Anthropophaga* [*Cordylobia anthropophaga* cutaneous myiasis]. *Rev Esp Salud Publica.* 2001 Jan-Feb;75(1):23-9.

- CDC. Centers for Disease Control and Prevention.  
Cdc.gov

# BLOQUE VIII

---

# MISCELÁNEA

# 34- ANÁLISIS BIOQUÍMICO Y TRATAMIENTO EN PACIENTE CON HIPERTRIGLICERIDEMIA

**Autores:** María Concepción Burgos Ballester, Mónica Pascual Ramírez de Arellano, Fernando Calvo Boyero.

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

**Palabras clave:** heparina intravenosa, hipertrigliceridemia, índice de lipemia.

## 1. INTRODUCCIÓN

Las alteraciones del metabolismo lipídico se encuentran con mucha frecuencia en la práctica clínica y para el estudio de las mismas en el laboratorio se deben tener en cuenta ciertas consideraciones preanalíticas. Entre ellas, la elevada variabilidad intraindividual de los lípidos: 6% para el colesterol y 20,9% para los triglicéridos. Por ello, para confirmar una dislipemia sería necesario realizar determinaciones en dos muestras obtenidas con una diferencia de tiempo de, al menos, 2 semanas. Entre los factores preanalíticos que pueden incrementar la concentración sérica de lípidos se pueden destacar la ingesta previa de alimentos, el tabaco, el consumo moderado de alcohol, enfermedades como el hipotiroidismo, la insuficiencia renal, infecciones, diabetes mellitus o la aplicación de torniquete. Factores preanalíticos que, sin embargo, pueden disminuir la concentración de lípidos son el ejercicio físico o la posición decúbito, que puede disminuir un 10% la concentración de colesterol total, LDL-colesterol y HDL-colesterol y hasta un 50% la de triglicéridos. El consumo de ciertos fármacos como inmunodepresores, antihipertensivos o esteroides sexuales también puede modificar el metabolismo de las lipoproteínas y la concentración sérica de lípidos.

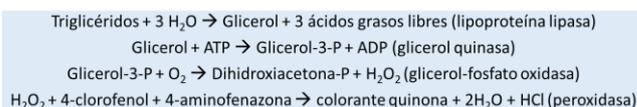
Una vez obtenida la muestra y tras su centrifugación, el estudio macroscópico de la misma proporciona información útil previa a su análisis. Especímenes en los que las concentraciones de LDL-colesterol son elevadas no presentan turbidez en el suero, mientras que en muestras con elevación de la concentración de triglicéridos podemos encontrar distintos grados de turbidez. Una muestra muy turbia o lechosa indica que los niveles de triglicéridos podrían ser superiores a 500 mg/dL. Si una muestra con aspecto lechoso se deja reposar unas 12-16 horas a 4°C, observaremos en la parte superior del suero una capa cremosa que revela una elevada concentración de quilomicrones. El hallazgo de unos niveles elevados de triglicéridos podría sugerir contaminación de la muestra con nutrición parenteral, toma de muestra sin respetar las horas previas de ayuno o una alteración en la actividad de la lipoproteína-lipasa.

Por lo tanto, uno de los indicadores de calidad de la muestra que se correlaciona con la turbidez de la misma y con una elevada concentración de lipoproteínas ricas en triglicéridos, principalmente lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y quilomicrones, es el índice de lipemia, que es a su vez una de las interferencias analíticas más frecuentes en el laboratorio. La interferencia causada por la lipemia se explica mediante tres mecanismos: la dispersión de la luz, el efecto

del desplazamiento de volumen y la falta de homogeneización de la muestra. Cuando el índice de lipemia es elevado, la turbidez causa interferencia en los métodos colorimétricos al producirse absorción y dispersión de la luz en un amplio rango de longitudes de onda, que incluye todo el espectro visible (300–700nm). Además, las lipoproteínas, debido a sus características hidrofóbicas, pueden disolver en su interior analitos como hormonas esteroideas y también interferir en la unión antígeno-anticuerpo. La lipemia puede alterar la determinación de magnitudes biológicas por métodos electroforéticos y también producir alteraciones morfológicas en la población de neutrófilos (aumento de tamaño, vacuolización citoplasmática o desgranulación) pudiendo interferir en el diferencial leucocitario obtenido por analizadores que utilizan la dispersión de luz.

La causa más frecuente de lipemia es la falta de ayuno del paciente, pero también se puede detectar una lipemia elevada en pacientes que están recibiendo nutrición parenteral, tras el consumo de diluyentes para fármacos poco solubles en agua que contienen emulsiones lipídicas, en hipertrigliceridemias primarias (síndrome de quilomicronemia familiar) o secundarias (diabetes mellitus, resistencia a insulina, infección por VIH, enfermedad renal, alcoholismo, etc.).

El método de referencia para la cuantificación de triglicéridos, determinación que nos ocupa en este caso clínico, es la espectrometría de masas dilución isotópica (ID-MS). Sin embargo, el método analítico más empleado en los laboratorios clínicos es el método enzimático basado en la sucesión de reacciones acopladas y la cuantificación del glicerol tras la hidrólisis de los triglicéridos (Imagen 1). La medida de absorbancia del colorante rojizo producido en la última reacción enzimática es proporcional a la concentración de glicerol y, por lo tanto, equivalente a la concentración sérica de triglicéridos. Este método analítico presenta dos variantes en función de si se realiza o no corrección por el glicerol libre, siendo el último caso lo más común en los analizadores automatizados.



**Figura 1.** Secuencia de reacciones enzimáticas que constituyen el método analítico para la determinación de triglicéridos por el analizador Roche/Hitachi cobas c701. Elaboración propia.

La lipemia, al igual que otras interferencias analíticas, puede ocasionar cambios clínicamente significativos que supongan una interpretación errónea por parte del médico peticionario.

Por ello, es importante valorar los diferentes métodos descritos para reducir la interferencia por lipemia y permitir así la determinación de magnitudes biológicas de manera exacta.

## 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

### 2.1 Motivo de consulta:

Varón de 45 años natural de Rumanía que acude a urgencias en enero del año 2023 por cuadro de dolor abdominal intenso en hipocondrio izquierdo no irradiado de 12 horas de evolución con náuseas y sensación de mareo, sin vómitos, alteraciones del tránsito gastrointestinal ni fiebre, tolerando líquidos pero no sólidos. El paciente también presenta signos de broncoespasmo con sibilancias bilaterales diseminadas pero sin sintomatología respiratoria, que se resuelven con broncodilatadores registrando una mejoría de la saturación de oxígeno (sO<sub>2</sub> basal de 98%). Desde el Laboratorio de Bioquímica y Análisis Clínicos, se notifica la dificultad para el análisis del suero por el alto índice de lipemia. Se solicita una nueva analítica que muestra elevación de transaminasas, Gamma-GGT, LDH, lipasa y triglicéridos.

Para descartar otro proceso intraabdominal se realiza una tomografía computarizada (TC) abdominopélvica que muestra pancreatitis intersticial edematosa aguda en la cola del páncreas. Se descarta la etiología litiásica tanto por la prueba de imagen como por los resultados del análisis bioquímico, que no muestra indicios de obstrucción de la vía biliar al no detectarse hiperbilirrubinemia.

Ante la clínica presentada por el paciente y los resultados bioquímicos y de imagen, se decide el ingreso a cargo de Medicina del Aparato Digestivo por pancreatitis aguda secundaria a hipertrigliceridemia con score BISAP de bajo riesgo.

### 2.2 Antecedentes personales:

Entre los antecedentes personales del paciente, destacan:

- Exfumador (un paquete de tabaco al día) y consumidor de alcohol ocasional, negando consumo habitual de bebidas de alcohol destilado. El consumo de alcohol diario (3-4 vasos de vino) no impresiona de cuantía claramente importante como para ser la causa de la clínica presentada por el paciente. Asimismo, notifica un mayor consumo enólico en el pasado.
- Dislipemia no filiada, con consumo ocasional de estatinas, pero no se conocen antecedentes de hipertrigliceridemia.
- Necrosis avascular en cadera izquierda intervenida en 2013 con prótesis de cadera.
- Sepsis secundaria a neumonía bilobar con broncoespasmo secundario.
- Hipertransaminasemia de origen enólico,

### 2.3 Antecedentes familiares:

El paciente no presenta antecedentes familiares de interés.

### 2.4 Enfermedad actual:

El paciente presenta un cuadro de dolor abdominal intenso en hipocondrio izquierdo de 12 horas de evolución con

náuseas en contexto de hipertrigliceridemia y alteraciones analíticas en el perfil hepático.

### 2.5 Exploración física:

A su llegada a urgencias el paciente refiere dolor abdominal intenso en el flanco izquierdo acompañado de náuseas y mareo, sin vómitos. Se mantiene en un regular estado general, consciente y orientado en las 3 esferas, afebril, eupneico (15 respiraciones/minuto) respirando aire ambiente, normohidratado, normocoloreado y normoperfundido. Presenta abdomen doloroso a la palpación profunda en hipocondrio y flanco izquierdos, sin palpación de masas ni megalias ni manifestación de signos de irritación peritoneal. Miembros inferiores sin edemas ni signos de trombosis venosa profunda.

Durante la medición de las constantes se recogieron los siguientes resultados:

- Temperatura corporal de 34.9 °C
- Tensión sistólica 142 mmHg
- Tensión diastólica 105 mmHg
- Frecuencia cardíaca 99 latidos/minuto
- Saturación O<sub>2</sub> basal 97%

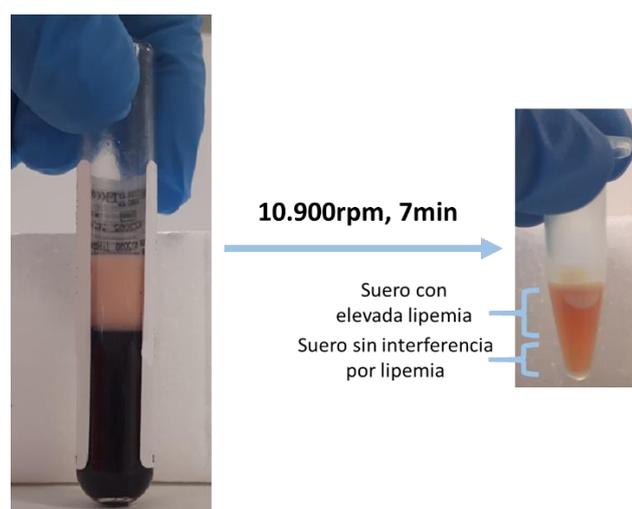
Se notifica mejoría parcial de los síntomas tras administración de analgesia. En las siguientes horas se solicitan sucesivos análisis bioquímicos en muestras de suero en las que destaca la dificultad de las determinaciones debido al elevado índice de lipemia.

## 3. INFORME DEL LABORATORIO

A la llegada del paciente a Urgencias a fecha de 2 de enero de 2023, se solicita una primera analítica. Debido a la elevada concentración de lipoproteínas ricas en triglicéridos, el estudio macroscópico del suero revela un aspecto turbio y lechoso (Figura 2A), con un índice de lipemia superior a 2000 que, inicialmente, supuso la anulación de los resultados de todos los parámetros bioquímicos solicitados. Con el objetivo de reducir dicha interferencia y poder realizar el mayor número de determinaciones analíticas posible, se procedió a la centrifugación de la muestra a un número de revoluciones por minuto (rpm) superior al habitual (3.500rpm, 5 minutos): 10.900rpm durante 7 minutos (Figura 3). Para la determinación de los triglicéridos, este procedimiento de centrifugación del suero y posterior separación de la porción lipémica no es válido, ya que son los triglicéridos los responsables de la elevación del índice de lipemia y quedarían concentrados en esa porción sérica separada e infraestimados en el suero no lipémico. Para la determinación de los mismos se llevó a cabo una dilución a 1:50 del suero. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 1, destacando la elevación de los siguientes parámetros: triglicéridos (8172 mg/dL), AST (109 U/L) y Gamma-GT (1426 U/L), lipasa (180 U/L).

Parámetro	Resultados 2/01/23	Resultados 3/01/23	Resultados 4/01/23	Unidades de medida	Valores de referencia
Índice de hemólisis	121	257	86	-	0 - 35
Índice de lipemia	*	193	9	-	0 - 500
Índice de ictericia	0	0	0	-	0 - 4
Glucosa	98	121	95	mg/dL	70 - 110
Creatinina	0,51	0,33	0,56	mg/dL	0,70 - 1,20
Filtrado glomerular	> 90	> 90	> 90	mL/min/1.73m <sup>2</sup>	≥ 60
Sodio	131	136	141	mEq/L	136 - 145
Potasio	3,94 (RIH)	3,80 (RIH)	3,87	mEq/L	3,50 - 5,10
Cloro	92	95	100	mEq/L	98 - 107
Proteínas totales	7.5	7,3	7.1	g/dL	6,4 - 8,3
ALT (GPT)	55 (RIH)	Resultado no valorable. RIL, RIH	35	U/L	5 - 45
AST (GOT)	109 (RIH)	Resultado no valorable. RIL	51 (RIH)	U/L	5 - 33
Gamma-GT	1426	1225 (RIH)	1009	U/L	8 - 61
Fosfatasa alcalina	-	117 (RIH)	107	U/L	40 - 130
LDH	363 (RIH)	-	340 (RIH)	U/L	135 - 225
Bilirrubina	0.6	1.3	1.0	mg/dL	0,2 - 1,0
Amilasa	69	-	-	U/L	28 - 100
Triglicéridos	8172	1891 / 2031	577	mg/dL	50 - 200
Colesterol	-	637	-	mg/dL	≤ 200
HDL-Colesterol	-	25	-	mg/dL	≥ 55
Colesterol-No HDL	-	612	-	mg/dL	
Colesterol/HDL-Colesterol	-	25,48	-		
Hierro	-	35	-	µg/dL	59 - 158
Ferritina	-	3027	-	ng/mL	30 - 400
Transferrina	-	192	-	mg/dL	200 - 360
TIBC	-	271	-	µg/dL	250 - 400
% Saturación Transferrina	-	13,1	-	%	20 - 50
Proteína C reactiva	0,08	5,70	21,47	mg/dL	0,10 - 0,50
Lipasa	180	-	-	U/L	13 - 60
Procalcitonina	-	0,67	-	ng/mL	≤ 0.50

**Tabla 1.** Resultados de parámetros bioquímicos antes (2/01/23) y después (3/01/23 y 4/01/23) de la administración del tratamiento. En negrita se resaltan los valores que se encuentran fuera del intervalo de referencia. \*: índice de lipemia no valorable. Muestra analizada tras centrifugación a 10.900rpm durante 7 minutos para separar la parte lipémica del suero. RIH: Resultado interferido por hemólisis; RIL: Resultado interferido por lipemia. Elaboración propia



**Figura 3.** Procedimiento preanalítico llevado a cabo para el análisis de la primera muestra enviada al laboratorio a fecha de 2/01/2023. Mediante centrifugación a 10.900rpm durante 7 minutos se logró obtener un volumen de suero suficiente para realizar la mayor parte de las determinaciones bioquímicas reduciendo la interferencia por lipemia. Elaboración propia.

sedimento urinario que no muestra resultados patológicos.

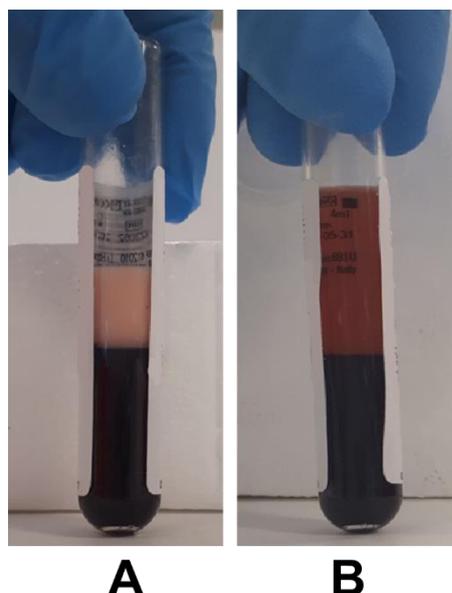
#### 4. TRATAMIENTO Y EVOLUCIÓN

Tras la obtención de los resultados de laboratorio y de las pruebas de imagen, junto con la clínica presentada por el paciente, se establece como diagnóstico una pancreatitis aguda secundaria a hipertrigliceridemia (score BISAP de bajo riesgo).

El tratamiento pautado para el paciente fue de dieta absoluta, suero fisiológico (cloruro sódico al 0,9%), suero glucosado (glucosa al 5%), enalapril como antihipertensivo, petidina y paracetamol alternado con metamizol como analgésicos y enoxaparina sódica inyectable (heparina sódica de bajo peso molecular).

Tras recibir este tratamiento, se solicitan nuevos análisis bioquímicos los días 3 y 4 de enero, logrando una disminución considerable de concentración de triglicéridos (1891 mg/dL, 2031 mg/dL y 577 mg/dL), AST (51 U/L) y Gamma-GT (1225 U/L y 1009 U/L) (Tabla 1). Además, el estudio macroscópico de la muestra recibida el día 3 de enero ya se puede percibir una clara disminución de la turbidez (Figura 2B) en comparación con la muestra remitida al laboratorio el día 2 de enero (Figura 2A).

Adicionalmente, se realiza un análisis de sistemático y



**Figura 2.** Análisis macroscópico de las muestras de suero recibidas en el laboratorio los días 2/01/2023 (A) y 3/01/2023 (B), antes y después de iniciar el tratamiento respectivamente. Elaboración propia.

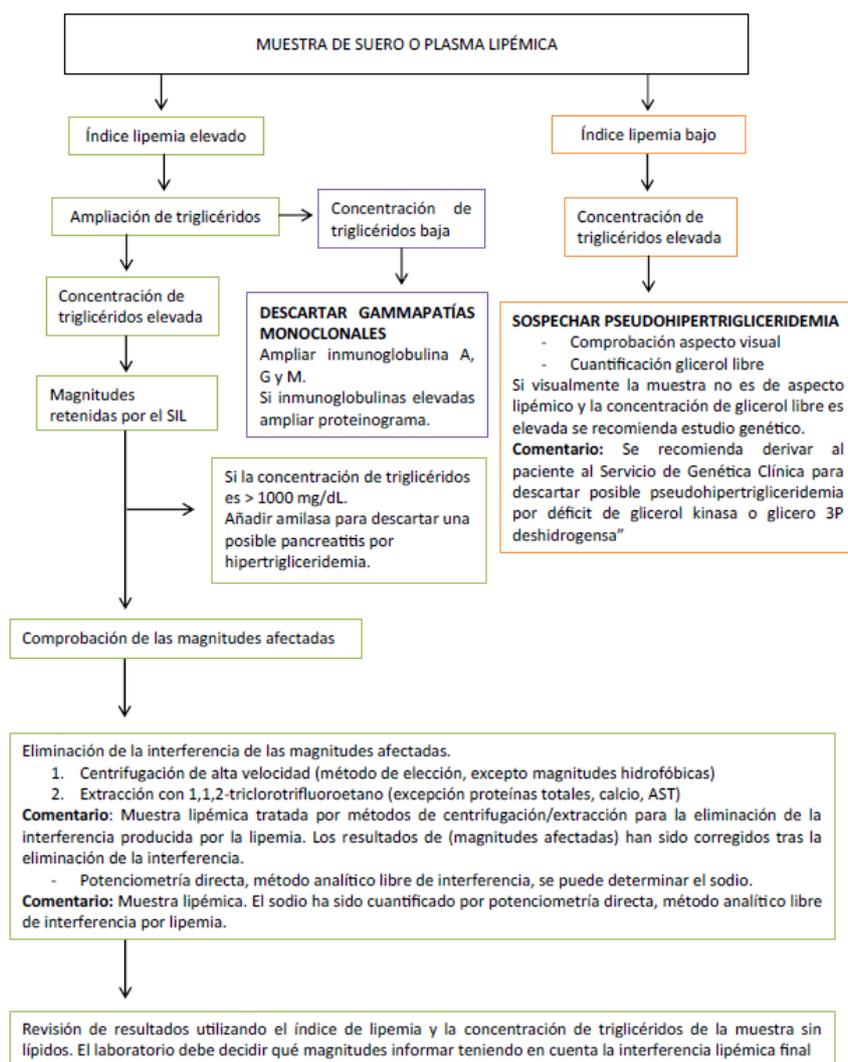
#### 5. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA: PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA Y TRATAMIENTO

En la bibliografía se describen numerosos métodos para el aclaramiento de muestras lipémicas, permitiendo así la determinación de gran cantidad de parámetros bioquímicos. En primer lugar, podemos nombrar la centrifugación: la ultracentrifugación (100.000-2.000.000xg) permite eliminar eficazmente los lípidos de la muestra. Sin embargo, no todos los laboratorios disponen del equipo necesario, y se podría lograr una separación de quilomicrones mediante centrifugación a alta velocidad (10.000-15.000xg). Tras esta centrifugación, los lípidos quedan en la parte superior del suero y podemos recuperar el infranadante con una pipeta de vidrio, teniendo cuidado de no contaminar la muestra con la capa lipídica. Este método permite la medición de numerosas magnitudes analíticas, a excepción de sustancias hidrofóbicas como hormonas o fármacos que quedarían infraestimadas. Otros procedimientos para reducir la interferencia por lipemia son: método de extracción de lípidos con solventes polares, como 1,1,2-triclorotrifluoroetano; método de dilución, a considerar para la correcta medición de magnitudes analíticas lipófilas, logrando disminuir el índice de lipemia por debajo del límite de interferencia pero sin disminuir más allá del límite de cuantificación de dichas magnitudes interferidas; o método de reemplazo isovolumétrico del plasma con diluyente isoosmótico, adecuado para muestras de hematimetría. El método más utilizado para el aclaramiento de lípidos es la centrifugación, seguido de la dilución y los métodos de extracción. En nuestro caso clínico, centrifugamos a 10.900rpm (aproximadamente 10.626xg) durante 7 minutos, logrando obtener suero con una interferencia reducida por lipemia en un volumen suficiente para la determinación de un elevado número de magnitudes bioquímicas. En el estudio de Prendes et al., se proponen protocolos para la detección y el manejo de muestras lipémicas en función del tipo de muestra

y magnitud biológica que se quiere determinar: magnitudes analíticas en suero o plasma, pruebas de hemostasia en plasma y hematimétricas en sangre total. El diagrama de flujo propuesto para la determinación de magnitudes bioquímicas en muestras de suero o plasma con alto índice de lipemia se muestra en la Figura 4.

La hipertrigliceridemia causa pancreatitis aguda con una incidencia del 2 al 5%. El manejo de estos pacientes está dirigido a disminuir la concentración de triglicéridos, aunque la eficacia de los distintos tratamientos disponibles varía en función de la etiología. La hipertrigliceridemia puede tener distintas causas, desde desórdenes monogénicos o poligénicos en genes como el de la lipoproteína-lipasa apolipoproteínas C2 o A5, entre otros, hasta factores secundarios como diabetes, obesidad, consumo excesivo de alcohol o dietas ricas en grasas. El mecanismo por el cual la hipertrigliceridemia causa pancreatitis no es del todo conocido, pero se describe la siguiente hipótesis: la hidrólisis de triglicéridos por las lipasas pancreáticas es responsable de una gran producción de ácidos grasos libres que, potencialmente, pueden acumularse en los lechos capilares del páncreas. Este depósito podría causar isquemia y acidosis, contribuyendo a la activación del tripsinógeno responsable del daño producido en las células acinares y en último término, de la pancreatitis. Además, la propia acumulación de quilomicrones produce un efecto de hiperviscosidad sanguínea que reduce la circulación a través de los capilares pancreáticos, siendo también responsable de la isquemia.

Las terapias descritas para reducir los niveles de triglicéridos incluyen la administración de insulina, heparina, fenofibrato, ácidos grasos omega-3 y estatinas así como la plasmaféresis. El papel de la insulina en el tratamiento de las hipertrigliceridemias radica en la activación, además de promover la síntesis por parte de las células musculares y adipocitos, de la lipoproteína-lipasa, logrando el aclaramiento de los triglicéridos circulantes mediante su hidrólisis a ácidos grasos libres, que pueden ser transportados a tejidos circundantes para su metabolismo o almacenamiento. Además, también se cree que la insulina podría inhibir la reesterificación de los ácidos grasos en triglicéridos. Sin embargo, el tratamiento con insulina puede ocasionar complicaciones como hipoglucemia e hipopotasemia. Otro tratamiento comúnmente implementado es la heparina, que suele emplearse en combinación con la terapia de insulina. Su mecanismo de actuación consiste en la movilización de la lipoproteína-lipasa desde las células endoteliales evitando la conversión de la dicha enzima en su forma no activa y permitiendo la disminución de triglicéridos circulantes. La terapia con heparina tiene como ventaja añadida la tromboprolifaxis, previniendo a los pacientes con pancreatitis aguda secundaria a hipertrigliceridemia de sufrir un tromboembolismo, pero con un riesgo hemorrágico incrementado en pacientes con necrosis pancreática. Por otro lado, estudios recientes proponen la plasmaféresis como tratamiento efectivo para casos graves de pancreatitis inducida por hipertrigliceridemia, pudiendo reducir los niveles de triglicéridos un 49-97% en un único procedimiento. Esta eliminación extracorpórea de quilomicrones podría detener el daño orgánico, disminuir rápida y significativamente la concentración de triglicéridos y los niveles de citosinas



**Figura 4.** Diagrama de flujo para la detección y tratamiento de muestras de suero o plasma lipémicas en el análisis de magnitudes bioquímicas. Tomado de: Fernández-Prendes *et al*, 2023

proinflamatorias. Entre las posibles complicaciones de esta terapia podemos destacar la hipotensión, infecciones, reacciones de hipersensibilidad, sangrados e hipocalcemia.

## 6. CONCLUSIÓN

Hasta un 10% de los casos de pancreatitis aguda tienen la hipertrigliceridemia como etiología, con una mortalidad que puede alcanzar el 30%. Por lo tanto, resulta necesario comenzar rápidamente un tratamiento efectivo que logre disminuir la concentración de triglicéridos. Para el diagnóstico y monitorización del tratamiento de las hipertrigliceridemias es necesario realizar determinaciones bioquímicas periódicas, con la dificultad que supone a nivel analítico el manejo de muestras con elevado índice de lipemia. Por ello, los laboratorios clínicos deben establecer protocolos estandarizados para la detección y el manejo de las muestras lipémicas en función del tipo de muestra y magnitud biológica a determinar.

## BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Fernández-Prendes C, Castro Castro MJ, Sánchez Navarro L, Rapún Mas L, Morales-Indiano C, Arrobas Velilla T. Manejo de muestras lipémicas en el Laboratorio Clínico. *Adv Lab Med*. 2023.
- González Hernández Á. Principios de bioquímica clínica y patología molecular. 3ª ed. Barcelona: Elsevier; 2019.
- Roche Diagnostics. Triglycerides [Internet] 2022-03, V 10.0 Español. [citado 28 mar 2023]. Disponible en: <https://pim-eservices.roche.com/eLD/web/es/es/home>
- Santos A, Ferreira F, Brás C, Curto A, Silveira Ramos M, Madeira C. Plasmapheresis as an Alternative Treatment of Hypertriglyceridemia-Induced Pancreatitis: A Case Report. *Cureus*. 2022;14(11).
- Tolento Cortes L, Trinh J, Le M, Papayanis P, Tudit-Hans L, Hong L. Safety and Efficacy of Insulin and Heparin in the Management of Hypertriglyceridemia-Induced Pancreatitis in a Patient without Diabetes: A Case Report. *Case Reports in Endocrinology*. 2022.

# 35- DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL DE LAS HIPERCALCEMIAS

**Autores:** Ylenia Pérez Arnaiz, Fernando Calvo Boyero.

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

**Palabras clave:** Mieloma múltiple, Hormona paratiroidea, Vitamina D.

## 1. INTRODUCCIÓN

El calcio es el principal catión del organismo. Además de formar parte del esqueleto humano, tiene un papel fundamental en la contracción muscular, la secreción de neurotransmisores y hormonas, y otras vías de señalización celular.

En el plasma, el calcio circula en forma de tres fracciones diferentes. La fracción mayoritaria, hasta un 50%, se trata del calcio iónico o calcio libre, siendo esta la forma fisiológicamente activa; alrededor de un 45% del calcio se encuentra unido a proteínas plasmáticas, principalmente albúmina; y el 5% restante, formando complejos.

La hipercalcemia es un problema clínico relativamente frecuente y se define como una concentración sérica de calcio total superior a 10,4 mg/dL o de calcio ionizado superior a 1,30 mmol/L.

## 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

### 2.1 Motivo de consulta:

Mujer de 73 años con lumbalgia progresivamente en aumento de un mes de evolución, que no cede con analgesia y que limita la movilidad. Acude al Servicio de Urgencias de Traumatología en hasta cuatro ocasiones.

### 2.2 Antecedentes personales:

Entre los antecedentes personales, destacan:

- Hipertensión arterial sin otros factores de riesgo cardiovascular.
- Mantoux positiva tratada.
- Enfermedad inflamatoria intestinal tipo colitis ulcerosa.
- Infección por VHC sin fibrosis significativa tratada con respuesta viral sostenida.
- Portador inactivo de VHB.
- Insuficiencia venosa crónica.
- Artrosis.
- Osteopenia.

### 2.3 Antecedentes familiares:

La paciente no presenta antecedentes familiares de interés.

### 2.4 Enfermedad actual:

La paciente presenta dolor lumbar no filiado junto con un cuadro de alteración del comportamiento con disminución del nivel de conciencia, alucinaciones, mioclonías y lenguaje cada vez más ininteligible. La hija refiere marcada pérdida de peso en los últimos meses. Progresivamente desarrolla

mayor postración hasta perder la capacidad de ponerse de pie y caminar por su cuenta. Refiere poliuria con sensación de sed intensa y rinorrea.

Aporta RMN de centro privado que muestra posible microfractura de L5 o posible infiltración.

### 2.5 Exploración física:

A su llegada al Servicio de Urgencias la paciente impresiona de regular estado general, eupneica en reposo, deshidratación mucocutánea, normocoloreada, buena perfusión distal.

La medición de las constantes arrojó los siguientes resultados:

- Temperatura de 35,8°C.
- Tensión sistólica 135 mmHg.
- Tensión diastólica 85 mmHg.
- Frecuencia cardíaca 91 latidos/min.

## 3. INFORME DEL LABORATORIO

Se realiza una analítica sanguínea en el Servicio de Urgencias en la que destaca hipercalcemia grave, alteración del perfil renal, elevación de reactantes de fase aguda, hipopotasemia e hiperuricemia. Elevación de proteínas totales con albúmina normal. Se amplía la determinación de PTH y vitamina D. Los resultados más relevantes obtenidos en el laboratorio se recogen en la tabla 1.

## 4. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

Se realizan radiografías de tórax, abdomen y lumbosacra. En esta última se observan cambios en L5 con disminución de la altura del cuerpo vertebral impresionando de aplastamiento. Se realiza electrocardiograma que no presenta alteraciones.

Ante el cuadro de hipercalcemia, fracaso renal y alteraciones óseas en paciente con cuadro inespecífico de deterioro progresivo se decide ingreso para estudio.

Puesto que la PTH y la vitamina D se encuentran disminuidas, se descarta la hipercalcemia mediada por PTH como posibilidad, siendo el mieloma múltiple la principal sospecha diagnóstica. Por ello, se solicita electroforesis con inmunofijación, así como TAC toracoabdominal y craneal.

En el TAC craneal se observan múltiples lesiones osteolíticas bien delimitadas en calota y hueso esfenoidal. En el TAC toracoabdominal se observan lesiones líticas en cuerpo vertebral L5 y en arco costal posterior izquierdo. Todas estas lesiones líticas pueden estar en relación con afectación por

mieloma múltiple.

Parámetro	Resultado	Intervalo de referencia
Creatinina	1,38*	0,50 – 0,90 mg/dL
Urea	116*	15 – 71 mg/dL
Filtrado glomerular (CKD-EPI)	38*	>=60 mL/min/1,73m <sup>2</sup>
Potasio	2,87*	3,50 – 5,10 mEq/L
Proteínas totales	9,3*	6,4 – 8,3 g/dL
Albúmina	4,2	3,5 – 5,0 g/dL
Calcio (corregido por albúmina)	15,5*	8,6 – 10,2 mg/dL
PCR	10,03*	0,10 – 0,50 mg/dL
Ácido úrico	12,4*	2,2 – 5-7 mg/dL
PTH	8,6*	15 – 65 pg/mL
Vitamina D (25-hidroxi-vitamina D)	16,8*	20 – 40 ng/mL

**Tabla 1.** Resultados más relevantes de la analítica realizada en el Servicio de Urgencias. Se resaltan los valores fuera del intervalo de referencia. Elaboración propia.

En la electroforesis se observa pico de probable origen monoclonal en la región gamma de una cuantía de 1,84 g/dL que se confirma con la presencia de bandas monoclonales en la inmunofijación. Se confirma, por tanto, secreción clonal de paraproteína IgG Kappa.

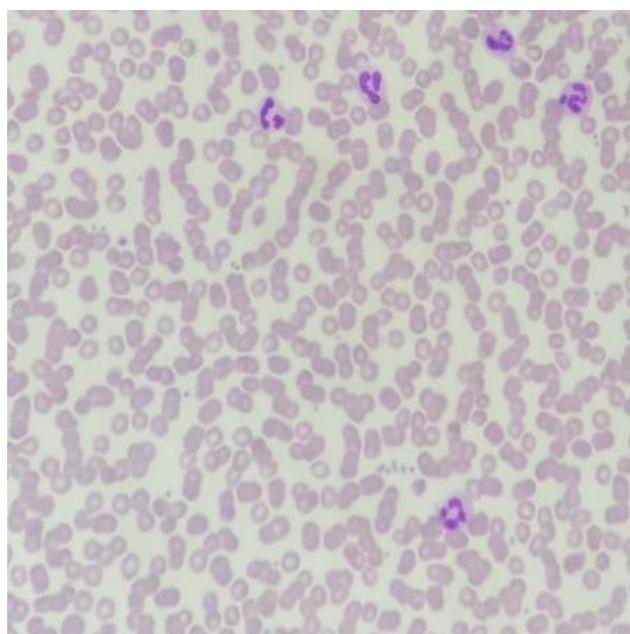
Para confirmar el diagnóstico, se solicita biopsia de médula ósea para estudio de citología e inmunofenotipo. En la citología se observan un 3% de células plasmáticas morfológicamente atípicas con pérdida de cromatina “en rueda de carro”, pérdida de excentricidad nuclear, presencia de nucleolo y ocasionales células plasmáticas binucleadas. Además, se observa marcada desviación a la izquierda e hipoplasia de serie eritroide. En el estudio de inmunofenotipo por citometría de flujo se observa un 13,68% de células plasmáticas, lo cual es compatible con mieloma múltiple. Figuras 1 y 2.

## 5. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

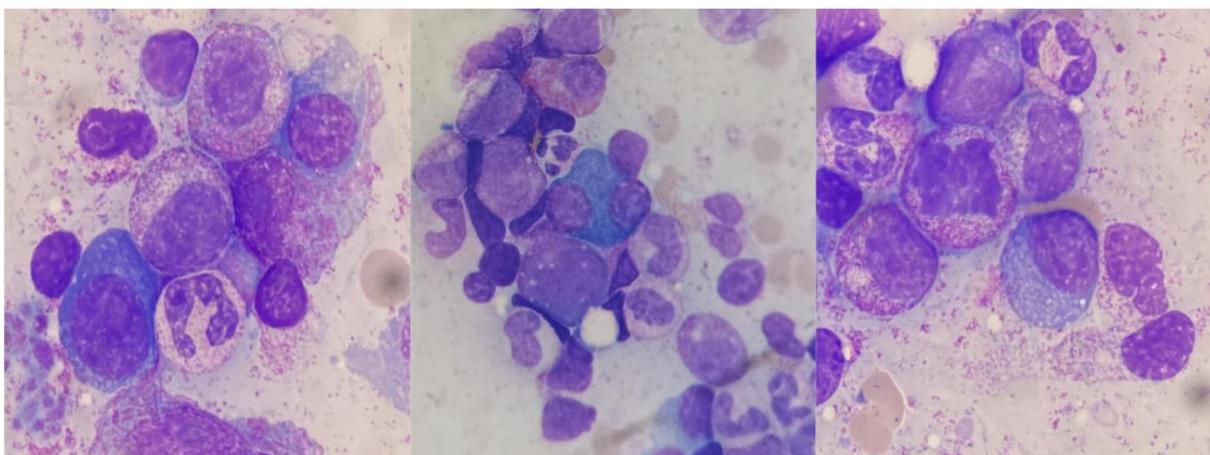
Mieloma múltiple IgG Kappa.

## 6. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Entre todas las causas de hipercalcemia se encuentran las mencionadas en la tabla 2. El algoritmo diagnóstico diferencial se describe en la figura 3.



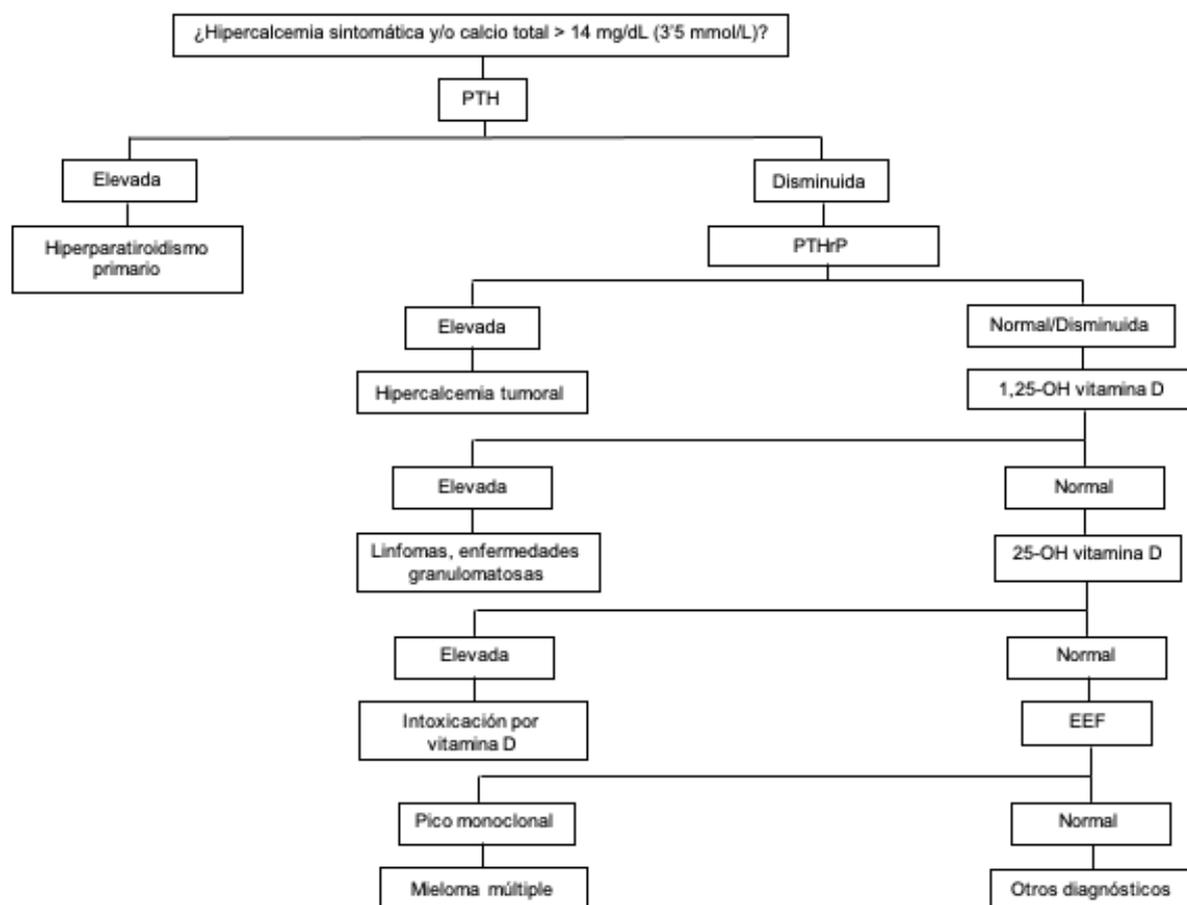
**Figura 1.** Imagen del frotis de sangre periférica de la paciente. Se observa la presencia de fenómeno de Rouleaux o hematíes en pila de monedas típico en fenómenos que cursan con hiperproteinemia como el mieloma múltiple. Elaboración propia.



**Figura 2.** Imágenes correspondientes a la citología de médula ósea de la paciente. Se observan células plasmáticas de tamaño aumentado, con núcleo excéntrico, algunas binucleadas, con pérdida de cromatina en rueda de carro y de arcoplasma y citoplasma basófilo. Elaboración propia.

Disfunción paratiroidea:	Medicamentosa:
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hiperparatiroidismo primario</li> <li>• Trastornos hereditarios               <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Síndrome de neoplasia endocrina múltiple</li> <li>○ Hiperparatiroidismo aislado familiar</li> <li>○ Síndrome de hiperparatiroidismo-tumor mandibular</li> </ul> </li> <li>• Hipercalcemia hipocalciúrica familiar</li> <li>• Hiperparatiroidismo terciario (insuficiencia renal)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Diuréticos tiazídicos</li> <li>• Litio</li> <li>• Teriparatida</li> <li>• Abaloparatida</li> <li>• Exceso de vitamina A</li> <li>• Toxicidad por teofilina</li> </ul>
No mediada por paratiroides	Otras:
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hipercalcemia de malignidad</li> <li>• Intoxicación por vitamina D</li> <li>• Trastornos granulomatosos crónicos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hipertiroidismo</li> <li>• Acromegalia</li> <li>• Feocromocitoma</li> <li>• Insuficiencia suprarrenal</li> <li>• Inmovilización</li> </ul>

**Tabla 2.** Etiología de la hipercalcemia. Adaptada de: Hospital Universitario 12 de Octubre. Manual de Diagnóstico y Terapéutica Médica. 2022.



**Figura 3.** Algoritmo diagnóstico de la hipercalcemia. Adaptada de: Hospital Universitario 12 de Octubre. Manual de Diagnóstico y Terapéutica Médica. 2022.

## 7. EVOLUCIÓN

Debido a la gravedad de la hipercalcemia de la paciente se pautan bifosfonatos y sueroterapia para disminuir la concentración sérica de calcio. Además, se pauta rasburicasa para disminuir la concentración de ácido úrico. Se decide comenzar tratamiento activo para mieloma múltiple empleando terapia combinada de bortezomib, lenalidomida y dexametasona. Actualmente se encuentra en el primer ciclo presentando una mejoría clínica significativa a la espera de alta a domicilio.

## 8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

La hipercalcemia es un problema clínico relativamente frecuente secundario a distintas patologías.

En cuanto a sintomatología, podemos diferenciar la hipercalcemia entre leve, moderada y grave. Las hipercalcemias leves (inferiores a 12 mg/dL) suelen ser asintomáticas mientras que las hipercalcemias graves (por encima de 14 mg/dL) presentan síntomas bastantes inespecíficos. Los primeros síntomas en manifestarse suelen ser digestivos como estreñimiento, náuseas, vómitos, anorexia, etc. También cursan con manifestación renal como poliuria, polidipsia, fallo renal, nefrolitiasis, etc. Además, como se ha mencionado anteriormente, el calcio interviene

en la secreción de neurotransmisores por lo que puede aparecer clínica neurológica como ansiedad, depresión, falta de concentración, confusión...y alteraciones en la contracción muscular con manifestaciones musculoesqueléticas (mialgias, hipotonía, osteopenia, fracturas) y cardiovasculares (hipertensión arterial, arritmias...).

Entre las determinaciones necesarias para conocer la etiología de la hipercalcemia se encuentra la cuantificación de las dos hormonas encargadas de la homeostasis del calcio: la hormona paratiroidea o paratirina (PTH) y la 1,25-dihidroxitamina D (calcitriol).

La PTH es una hormona liberada por las glándulas paratiroides en respuesta a niveles bajos de calcio. Actúa directamente en el hueso favoreciendo la resorción ósea, y en el riñón estimulando la reabsorción de calcio y la síntesis de calcitriol que, a su vez, favorecerá la reabsorción intestinal. Todo ello favorecerá un aumento de los niveles de calcio plasmáticos.

La 1,25-dihidroxitamina D o calcitriol es la forma activa de la vitamina D. Ante un aumento de PTH, ejerce una acción hipercalcemiante favoreciendo la absorción de calcio tanto en el duodeno como a nivel renal y la resorción ósea.

Entre todas las causas de hipercalcemia mencionadas en la tabla 2, el hiperparatiroidismo primario y las neoplasias

malignas representan más del 90% de los casos.

El hiperparatiroidismo primario se trata de un trastorno generalizado secundario a una excesiva secreción de PTH. Es la causa más frecuente de hipercalcemia. La PTH secretada va a aumentar el calcio sérico al incrementar la absorción intestinal, la reabsorción tubular distal y la resorción ósea. Además, como se ha mencionado anteriormente, estimula la síntesis de calcitriol que también va a incrementar la absorción de calcio a nivel intestinal. Los pacientes con hiperparatiroidismo primario suelen presentar hipercalcemia leve (<12mg/dL) asintomática de larga evolución.

Por otro lado, la hipercalcemia es relativamente común en pacientes oncológicos, tanto en pacientes con tumores sólidos como con neoplasias hematológicas. Los pacientes con hipercalcemia de malignidad suelen presentar valores de calcio superiores a 13 mg/dL y, por el contrario de aquellos con hiperparatiroidismo primario, tienden a presentar sintomatología.

Los mecanismos por los cuales tiene lugar la hipercalcemia son la secreción tumoral de proteína relacionada con PTH (PTHrP), metástasis osteolíticas y producción tumoral de calcitriol.

La PTHrP es una proteína cuyo extremo aminoterminal es similar al de la PTH siendo reconocido por el receptor de PTH provocando la reabsorción de calcio a distintos niveles. La medición de los niveles séricos de PTHrP es útil para monitorizar la respuesta al tratamiento del tumor.

Por otro lado, las metástasis osteolíticas son comunes en tumores sólidos y mieloma múltiple. En este caso, las células tumorales estimulan la producción y acción de los osteoclastos aumentando la reabsorción esquelética y en consecuencia la calcemia.

En el caso que concierne este capítulo, la paciente es diagnosticada de mieloma múltiple. Se trata de una neoplasia hematológica caracterizada por la proliferación de células plasmáticas en médula ósea que producen una paraproteína con una concentración en sangre igual o superior a 3g/dL cuantificable por electroforesis y caracterizada mediante inmunofijación. Este componente monoclonal suele acompañarse de lesiones osteolíticas, osteopenia y/o fracturas patológicas que darán lugar a hipercalcemia. El mieloma múltiple se ha de sospechar ante pacientes con una o más de las siguientes manifestaciones clínicas: dolor óseo con lesiones líticas, aumento de la concentración sérica de proteína total sin elevación de albúmina sérica, presencia de componente monoclonal en orina o en suero, hipercalcemia sintomática o incidental, insuficiencia renal aguda o anemia inexplicada.

El tratamiento de la hipercalcemia debe tener como objetivo reducir los niveles de calcio séricos y, si es posible, tratar la enfermedad subyacente. La elección óptima de tratamiento dependerá de la causa de la hipercalcemia y de la gravedad de esta. La hipercalcemia grave (>15 mg/dL) constituye una urgencia médica que necesita tratamiento inmediato ya que puede dar lugar a arritmias ventriculares e incluso coma. Sin embargo, aquellos pacientes con hipercalcemias leves, moderadas o asintomáticas no requieren tratamiento o al menos no de forma urgente.

Para el tratamiento de la hipercalcemia moderada está indicado el uso de sueroterapia y diuréticos con la finalidad de aumentar la excreción urinaria de calcio. En el caso de la hipercalcemia grave, se recomienda el empleo de calcitonina o bifosfonatos como el zolendronato junto a sueroterapia y corticoides para, además de aumentar la excreción urinaria de calcio, disminuir los niveles séricos de calcio al inhibir la resorción ósea y la absorción intestinal. Por última instancia, en casos refractarios o con contraindicaciones se realizará diálisis.

Además, se ha de tratar la patología de base que causa la hipercalcemia. En el caso del hiperparatiroidismo primario el tratamiento de elección es el quirúrgico que consiste en la extirpación de las glándulas paratiroideas. En el caso de las hipercalcemias de malignidad, se ha de tratar cada caso con el tratamiento de elección.

Para concluir, como se ha descrito a lo largo del capítulo, la hipercalcemia se trata de una alteración clínica relativamente frecuente. Es importante conocer la etiología de la hipercalcemia para tratar la causa subyacente. Para ello existe un algoritmo diagnóstico bien definido en el cual la evaluación de laboratorio es imprescindible.

## BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Berzal Rico R, Fernández Argüeso A. Trastornos del metabolismo del calcio, fósforo y magnesio. En: Aparicio Minguijón EM, editor. Manual de Diagnóstico y Terapéutica Médica, 9ed. España: Hospital Universitario 12 de Octubre.; 2022. p.706-721.
- Colmenares Gil R, Caso Laviana JM. Neoplasias hematológicas. En: Aparicio Minguijón EM, editor. Manual de Diagnóstico y Terapéutica Médica, 9ed. España: Hospital Universitario 12 de Octubre.; 2022. p.1305-1317.
- El-Hajj Fuleihan G, Silverberg SJ. Primary hyperparathyroidism: Diagnosis, differential diagnosis, and evaluation. En: UpToDate.
- Horwitz MJ. Hypercalcemia of malignancy: mechanisms. En: UpToDate.
- Shane E, Berenson JR. Treatment of hypercalcemia. En: UpToDate.
- Shane E. Clinical manifestations of hypercalcemia. En: UpToDate.
- Shane E. Diagnostic approach to hypercalcemia. En: UpToDate.
- Paniagua Muñoz L. Hipercalcemia: fisiopatología, diagnóstico y tratamiento. Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica. 2015;71(617):787-790.
- Yeste D, Campos A, Fábregas A, Soler L, Mogas E, Clemente M. Patología del metabolismo del calcio. Protoc diagn ter pediatr. 2019;1:217-23.

# BLOQUE IX

---

# NEFROLOGÍA

## 36- ACIDOSIS METABÓLICA CON GAP OSMOLAR ELEVADO

**Autores:** Jesús Cabanes Madrid\*; Raquel Victoria Melgares de Aguilar Marco\*; Ilenia Liria González.

\*Ambos autores han colaborado de forma equitativa en la redacción del texto.

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

**Palabras clave:** acidosis, metanol, osmolalidad.

### 1. INTRODUCCIÓN

Los procesos metabólicos que suceden en el organismo producen continuamente cantidades de ácidos y bases. Concretamente, el metabolismo de grasas e hidratos de carbono son las principales fuentes de producción de ácidos en el organismo.

Los hidrogeniones resultantes de estos procesos metabólicos son especies muy reactivas capaces de alterar la función de proteínas cuando se encuentran en concentraciones elevadas, produciéndose por tanto una alteración de su carga, configuración y función. La alteración de la función de estas proteínas puede provocar consecuencias clínicas graves.

Los seres humanos disponemos de distintos sistemas reguladores para mantener un correcto funcionamiento de todo el organismo, lo que se conoce como homeostasis. Entre estos mecanismos, hay algunos destinados a mantener las concentraciones sanguíneas de dichos hidrogeniones dentro de un rango, típicamente en un intervalo de pH entre 7,35 y 7,45.

La concentración de hidrogeniones se regula de manera muy exacta con el fin de mantener los valores de pH en el organismo en márgenes muy estrechos. Pequeños cambios en su concentración producen alteraciones sustanciales en la velocidad de muchas reacciones químicas catalizadas por enzimas, pudiendo derivar incluso en una emergencia médica. Para impedir los cambios bruscos en la concentración de los hidrogeniones existen tres sistemas principales de control:

- Sistemas amortiguadores. Responden de manera inmediata a los desequilibrios del estado ácido-base. Pueden ser intracelulares como el tampón fosfato o extracelulares como las proteínas plasmáticas.
- Actividad pulmonar. Los cambios de pH son detectados por los quimiorreceptores arteriales que en respuesta aumentan o disminuyen el volumen y la frecuencia respiratoria, lo cual influye en las concentraciones de CO<sub>2</sub> y, por tanto, en el pH.
- Actividad renal. Controla el pH a través del ajuste de las concentraciones de HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> excretado o reabsorbido. Esta respuesta tarda en desarrollarse entre horas y días tras los cambios del equilibrio ácido-base.

Los fallos en estos sistemas producen finalmente alteraciones del equilibrio ácido-base. Según si el proceso tiende a disminuir o a aumentar el pH, se distinguen los términos acidosis y alcalosis respectivamente. A su vez, según si esa alteración es debida a una modificación de la

concentración de bicarbonato o de la pCO<sub>2</sub>, se distinguen los términos metabólico y respiratorio, respectivamente.

La acidosis metabólica es uno de los trastornos del equilibrio ácido-base en el que se produce una reducción del pH sanguíneo debido a que la acumulación de hidrogeniones supera la capacidad tamponadora del organismo o bien por una excesiva pérdida de bicarbonato. Entre las posibles causas de este fenómeno, destaca:

- Aumento en la producción de ácidos, como ocurre en una acidosis láctica o en la cetoacidosis.
- Aportes externos de ácidos como ocurre en la intoxicación por alcoholes como el metanol.
- Excreción reducida de ácidos por insuficiencia renal.
- Pérdida excesiva de bicarbonato a nivel digestivo o renal.

### 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

#### 2.1 Motivo de consulta:

Varón de 49 años, procedente de Rumanía, acude remitido desde asistencia extrahospitalaria, por presentar náuseas e importante dolor epigástrico que se irradia en cinturón hacia la espalda.

#### 2.2 Antecedentes personales:

Entre los antecedentes personales, destacan:

- Hábito alcohólico, con caídas en el contexto de intoxicaciones etílicas.
- Ingreso en la Unidad de Cuidados Intensivos de Trauma y Emergencias (UCITE) por intoxicación por monóxido de carbono.

#### 2.3 Antecedentes familiares:

El paciente no presenta antecedentes familiares de interés.

#### 2.4 Enfermedad actual:

A su llegada a Urgencias presenta mal aspecto general, una marcada agitación psicomotriz, sudoración abundante, e hipertensión arterial. Además, presenta alteración neurológica basada en una disminución de la agudeza visual, basada en una visión borrosa, visualización de destellos o fopsias y fotofobia. Se realiza una gasometría en la que se detecta una acidosis metabólica grave: pH inferior a 7, bicarbonato indetectable, pCO<sub>2</sub> en rango e hiperlactacidemia. Tras los resultados obtenidos el paciente es trasladado a la UCITE con intubación otrotraqueal.

## 2.5 Exploración física:

A su llegada a la UCITE, el paciente presentaba:

- Saturación de O<sub>2</sub> del 100% con ventilación simétrica de ambos hemitórax.
- Tensión arterial de 145/80 mmHg.
- Frecuencia cardíaca de 109 latidos por minuto.
- Escala de Glasgow: 3/15.
- Temperatura de 33°C.
- Agitación importante.

Tras los hallazgos bioquímicos en la gasometría, las alteraciones visuales y la agitación persistente, se decide realizar un TAC, donde se evidencia una hipocaptación de ambos riñones, el parénquima hepático y estructuras intestinales, que podría deberse a un estado de hipoperfusión, sin otras alteraciones a destacar.

## 3. INFORME DEL LABORATORIO

Las pruebas realizadas al paciente y los resultados bioquímicos se incluyen en la Tabla 1 (columna "Al ingreso"), junto con su evolución durante la estancia hospitalaria del paciente (columnas "Día 1" y "Día previo al alta").

En esta primera analítica más detallada, destaca la persistencia de una importante acidosis no filiada, con un pH por debajo de 7, un bicarbonato indetectable, una hiperlactacidemia y un Anión GAP elevado. No presenta hiperglucemia ni cetoacidosis diabética, siendo negativos los cuerpos cetónicos en orina. Presenta una ligera elevación de la creatinina sin alteración de la urea. Los tóxicos en orina son negativos, salvo opiáceos administrados por la atención extrahospitalaria. Se ampliaron niveles de etanol y salicilatos en sangre que también resultaron negativos.

## 4. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

Ante una acidosis metabólica con anión GAP elevado, pero con niveles de salicilato y etanol no detectables, se sospecha de una intoxicación por metanol (y menos probable por etilenglicol), con lo que se decide ampliar osmolaridad en plasma y así poder calcular también el GAP Osmolar (diferencia entre osmolaridad medida y la calculada). El resultado de esta Osmolalidad plasmática medida fue de 359 mOsm/Kg, mientras que la osmolalidad calculada era de 312 mOsm/Kg. Por tanto, el paciente presentaba un GAP Osmolar de 47 mOsm/Kg, lo cual ayudaba a orientar el diagnóstico a una posible intoxicación por metanol o etilenglicol, permitiendo iniciar el tratamiento.

## 5. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Ante la acidosis metabólica y la sospecha de intoxicación por metanol se comienza tratamiento con aportes de bicarbonato y etanol por vía intravenosa. Durante el tratamiento se observa una mejora en la gasometría: pH en ascenso (aumento de pH hasta 7,21 en las primeras horas y posteriormente 7,33), bicarbonato también en ascenso y el lactato en descenso.

Finalmente, el diagnóstico de intoxicación por metanol fue confirmado con los niveles de metanol en sangre, realizados en un laboratorio externo mediante cromatografía de gases con detector de ionización de llama.

Prueba	Al ingreso	Día 1	Día previo al alta	Intervalo de referencia
pH	<7,0	7,21	7,46	7,35 – 7,45
Bicarbonato (mmol/L)	Indetectable	14,4	33,4	21 – 28
pCO <sub>2</sub> (mmHg)	38	36	47	35 – 48
Lactato (mmol/L)	5,8	2,7	1,1	0,5 – 2,2
Sodio (mEq/L)	145	138	143	136 – 145
Potasio (mEq/L)	4,23	3,89	3,17	3,50 – 5,10
Glucosa (mg/dL)	117	200	85	70 – 110
Creatinina (mg/dL)	1,70	0,86	0,44	0,70 – 1,20
Urea (mg/dL)	45	25	11	20 – 48
Osmolalidad medida (mOsm/kg)	359	308	-	280 – 295

**Tabla 1.** Evolución de las pruebas laboratorio durante la estancia en el hospital del paciente. Elaboración propia.

## 6. EVOLUCIÓN

La administración de bicarbonato y etanol por vía intravenosa, llevaron a una mejora importante del paciente y a la normalización de los valores de pH al segundo día de su ingreso, por lo que se suspende la sedación y se retira la perfusión.

Por otro lado, para su estado neurológico se le inició tratamiento con diazepam, con el que se obtuvo una buena respuesta.

A pesar de la mejoría, el paciente mantenía una disminución de la agudeza visual con visión borrosa, y fue valorado por Oftalmología, concluyendo que la pérdida de agudeza visual era debida a la intoxicación sin que existiera otra patología de base. Una semana después del alta, el paciente refiere mejoría de su visión, con aumento de agudeza visual y percepción de los colores.

## 7. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

Aparte del etanol, existen otros alcoholes tóxicos cuyo consumo continúa siendo un problema de salud pública. Entre ellos, destacan el metanol, el etilenglicol y el isopropanol. Concretamente, el metanol y el etilenglicol son muy peligrosos en situaciones de sobredosis ya que, debido a su conversión en metabolitos ácidos, son capaces de provocar una importante acidosis metabólica. Además, el metanol se metaboliza mediante una serie de reacciones enzimáticas en ácido fórmico, el cual es un metabolito tóxico que, entre otras acciones, puede lesionar de forma permanente el nervio óptico y causar ceguera. A su vez, estos tres alcoholes tóxicos pueden producir una depresión del sistema nervioso central, lo cual puede poner en grave riesgo la vida del paciente intoxicado.

En estos casos, el diagnóstico precoz es clave para el pronóstico del paciente. Si se detecta a tiempo, el principal tratamiento eficaz es la administración de etanol. Esto se debe a que, tanto el metabolismo del etanol como el del metanol, presentan una primera etapa catalizada por la misma enzima: la alcohol deshidrogenasa. De esta forma, al administrar el etanol, se inhibe el metabolismo del metanol y, por tanto, se evita la producción de sus correspondientes metabolitos tóxicos.

Para el diagnóstico de estas intoxicaciones, se emplean las siguientes pruebas de laboratorio:

- Análisis de una gasometría para la determinación de pH que permite detectar la acidosis y calcular el anión GAP.
- Análisis de suero/plasma para la determinación de osmolalidad y otros parámetros como la glucosa o el

sodio, con lo que se puede posteriormente calcular también el GAP Osmolar.

Hay 2 tipos de osmolalidad sérica: la medida y la calculada. La osmolalidad medida, como su propio nombre indica, es la que se mide directamente, por ejemplo, mediante el descenso del punto de congelación. Por otro lado, la osmolalidad calculada es aquella que se estima a partir de la medición de las concentraciones de las principales moléculas endógenas osmóticamente activas, que son el sodio ( $\text{Na}^+$ ), la glucosa y el nitrógeno ureico en sangre (BUN) según la siguiente fórmula:

$$\text{Osmolaridad calculada} = 2 \times \text{Na}^+ + \text{Glucosa}/18 + \text{BUN}/2,8$$

Finalmente, el GAP Osmolar es la diferencia entre la osmolalidad medida y la calculada. El valor resultante es el reflejo de aquellas sustancias exógenas osmóticamente activas no incluidas en la fórmula de la osmolalidad endógena, como son el etilenglicol y el metanol.

Para concluir, cabe destacar la importancia de la medición de la osmolalidad en un laboratorio de Urgencias en este tipo de situaciones, en las que no se dispone de técnicas que permitan la medición directa de los niveles de compuestos tan especiales como el metanol. Su valor puede llegar a ser una herramienta muy útil que permita, junto con otros hallazgos clínicos y analíticos, una orientación precoz del diagnóstico que ayude a iniciar el tratamiento de forma más temprana, lo cual disminuye el riesgo de sufrir secuelas o incluso la muerte del paciente.

## BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Araya Oviedo A. Trastornos ácido base: diagnóstico y tratamiento. Rev.méd.sinerg. 2021; 6(2):e647.
- James L. Lewis III. Trastornos del equilibrio ácido-base. Birmingham: Merck & Co; 2021. Disponible en: <https://www.merckmanuals.com/>
- Rodríguez-Villar S, Do Vale B.M, Fletcher, H.M. El algoritmo de la gasometría arterial: propuesta de un enfoque sistemático para el análisis de los trastornos del equilibrio ácido-base. Revista Española de Anestesiología y Reanimación. 2020, 67(1), 20–34.
- Krasowski, M. D, Wilcoxon R. M, Miron J. A retrospective analysis of glicol and toxic alcohol ingestión: utility of anion and osmolal gaps. BMC Clinical Pathology. 2012, 12(1).
- Lynd L, Richardson K, et al. An evaluation of the osmole gap as a screenign test for toxic alcohol posoning. BMC Emergency Medicine. 2008, 8 (5).

## 37- SÍNDROME HEMOLÍTICO URÉMICO ATÍPICO

**Autores:** Mercedes Blanco Colomo, Mónica Pascual Ramirez de Arellano, Belén Ontañón Nasarre

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

**Palabras clave:** Microangiopatía, Atípico, Renal.

### 1. INTRODUCCIÓN

El síndrome hemolítico urémico (SHU) está definido por la tríada clásica de anemia hemolítica no inmune, trombocitopenia e insuficiencia renal aguda, en la que las lesiones histológicas subyacentes están mediadas por un proceso de microangiopatía trombótica (MAT) sistémico, afectando principalmente a los vasos intrarrenales. Las causas que pueden desencadenar un proceso de MAT en el contexto de SHU son variadas, pero la mayoría es causada por una infección por *Escherichia coli* productora de toxina Shiga (STEC) u otros microorganismos productores de verotoxina (VTEC) dando lugar a lo que se conoce como SHU típico. En un pequeño porcentaje (10%) se produce por una alteración de la vía alternativa del sistema del complemento, ya sea por causa genética o adquirida (autoanticuerpos) que conduce al desarrollo de daño endotelial y fenómenos de MAT sistémica. A este tipo de SHU se le denomina SHU atípico.

### 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

#### 2.1 Motivo de consulta:

Varón de 27 años de edad que acude a urgencias por cuadro de dolor torácico y sensación de disnea.

#### 2.2 Antecedentes personales:

- Natural de China.
- Barrera idiomática importante
- Sin antecedentes de interés.

#### 2.3 Antecedentes familiares:

- Madre HTA.
- Padre fallecido a los 50 años por causa cardiaca.

#### 2.4 Enfermedad actual:

El paciente acude a urgencias por cuadro de astenia de un mes de evolución, sensación de disnea en los últimos 4 días hasta hacerse de reposo y dolor torácico opresivo de horas de evolución. A su vez refiere dos deposiciones líquidas en los días previos, y la toma de una caja de antiinflamatorios en el último mes por cuadro de cervicalgia.

#### 2.5 Exploración física.

A su llegada a urgencias el paciente presenta mal estado general, taquipneico, consciente y orientado, Glasgow de 15. Pupilas isocóricas y normoreactivas. Auscultación cardiopulmonar con crepitantes bilateral hasta campos medios, abdomen sin hallazgos y miembros inferiores sin edemas ni signos de TVP.

La medición de las constantes arrojó los siguientes

resultados:

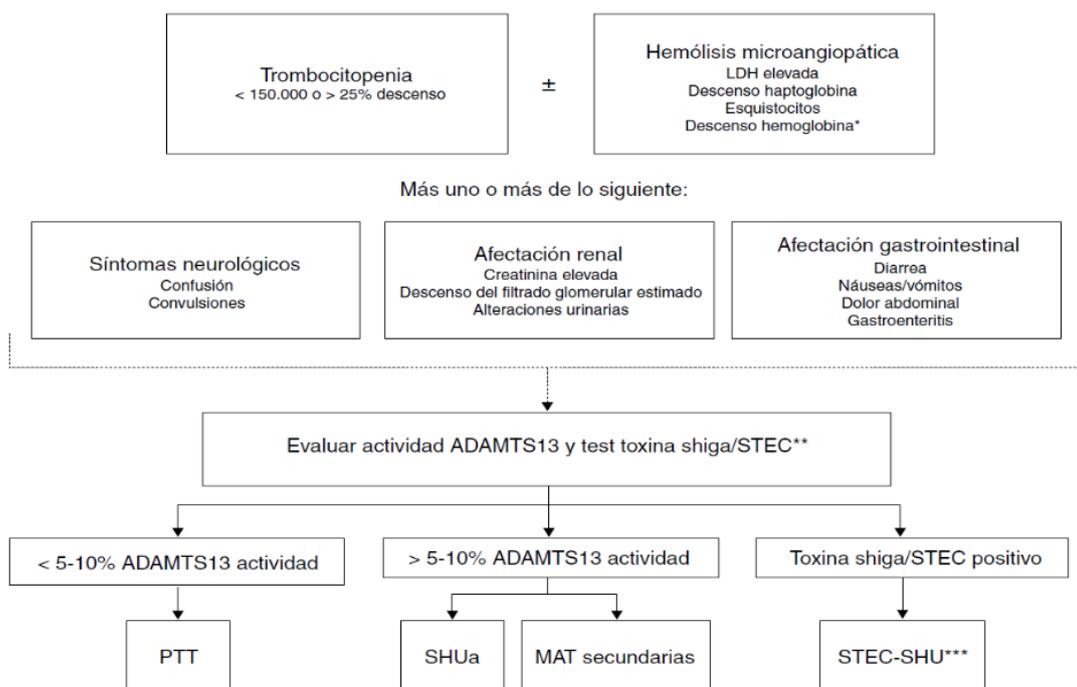
- Temperatura de 36.4 °C .
- Tensión sistólica 232 mmHg.
- Tensión diastólica 155 mmHg.
- Frecuencia cardíaca 114 latidos/min.

El paciente ingresa directamente en la Unidad Coronaria y posteriormente en UCI por cuadro de emergencia hipertensiva con afectación cardíaca (alteración electrocardiográfica e insuficiencia cardíaca de predominio izquierdo y elevación de MDM) y oftalmológica; en el FO se observan papilas muy pálidas, salida de grandes vasos obstruidos hasta bifurcación, vasos blancos, gran cantidad de exudación peripapilar, llegando a afectar la mácula en ambos ojos y alguna hemorragia pequeña aislada. Estos hallazgos son sugestivos de retinopatía hipertensiva grado III.

### 3. INFORME DEL LABORATORIO

La primera analítica realizada al paciente pone en alerta a los clínicos por la aparición de alteraciones muy relevantes, a destacar hemoglobina de 6.8 g/dL [13.0-16.8 g/dL], plaquetas 122 x 1000/ $\mu$ L [140-450 x 1000/ $\mu$ L], reticulocitos 155.6 x 1000/ng [29-46.4 x 1000/ng], creatinina 17.40 mg/dL [0.7-1.20 mg/dL], CK 219 U/l [34-145 U/l], urea 185 mg/dL [20-48 mg/dL], LDH 1285 U/l [135-214 U/l], bilirrubina 1.3 mg/dL [0.2-1.0 mg/dL], troponina T 447.2 ng/L [< 14 ng/L], PCR 13.72 mg/dL [0.1-0.50 mg/dL], fibrinógeno (derivado) 882 mg/dL [200-560 mg/dL], dímero D 1974 ng/mL [0-500 ng/dL], sedimento urinario con 8 hematíes por campo, frotis de sangre periférica con esquistocitos en número significativo que en el contexto de anémica regenerativa y plaquetopenia leve pueden ser compatibles con anemia hemolítica.

Ante la sospecha de una microangiopatía trombótica (MAT) tipo Síndrome Hemolítico Urémico Atípico, se solicitan las pruebas complementarias específicas ADAMTS 13 y Test toxina Shiga (Figura 1). Los resultados de estas pruebas fueron del 43% para la actividad de ADAMTS 13 y la toxina fue negativa. Se amplía estudio autoinmune, serologías y bioquímica. (Tablas 1 y 2).



**Figura 1.** Algoritmo para el diagnóstico diferencial de la microangiopatía trombótica primaria. Tomado de: Campistol JM y col. 2015.

Serología		
Prueba	Resultado	Valor de referencia
VHB	Negativo	-
VHC	Negativo	-
VIH	Negativo	-
CMV	IgG positiva	-
Otros		
Prueba	Resultado	Valor de referencia
Homocisteína	8.4µmol/L	5-14 µmol/L
Factor reumatoide	10 IU/ml	-
Ferritina	1391 ng/mL	30-400 ng/mL
PTH	246 pg/mL	15-65 pg/mL
Proteinograma	No se observan bandas monoclonales	-

**Tabla 1.** Datos analíticos complementarios. Elaboración propia.

<b>Autoinmunidad</b>		
<b>Prueba</b>	<b>Resultado</b>	<b>Valor de referencia</b>
Ac.Anti mieloperoxidasa.	Negativo	Negativo
Ac. Anti proteinasa 3	Negativo	Negativo
Ac. Antinucleares-IFI	Negativo	Negativo
Ac. Antimembrana glomerular.	Negativo	Negativo
Ac. Anti DNA.	Negativo	Negativo
Ac. Anti Nuclear	Negativo	Negativo
Ac. Anti SSA/Ro	Negativo	Negativo
Ac.anti SSA/Ro 52	Negativo	Negativo
Ac.anti SSA/ro 60	Negativo	Negativo
Ac. RNP.	Negativo	Negativo
Ac. Anti Prot Centromérica	Negativo	Negativo
Ac. Anti TOPO-I/SCL 70	Negativo	Negativo
Ac. Anti Jo-1	Negativo	Negativo
Ac. Antiribosomal P	Negativo	Negativo
Ac. Anti Sm	Negativo	Negativo
Ac. Anti Sm-RNP	Negativo	Negativo
Ac. Anti Cromatina	Negativo	Negativo
Ac. Anti cardiolipina IgG.	Negativo	Negativo
Ac. Anti B2 GPI IgG IgM	Negativo	Negativo
Ac. Anti Nucleares	Positivo	Negativo
Ac. Anti SSB/La	Positivo	Negativo
<b>Inmunoquímica</b>		
<b>Prueba</b>	<b>Resultado</b>	<b>Valor de referencia</b>
<b>C3</b>	120 mg/ dl	83-171 mg/dL
<b>C4</b>	34.70 mg/dl	14-38 mg/dL
<b>Haptoglobina</b>	69.10 mg/ dl	35-152 mg/dL

**Tabla 2.** Datos analíticos complementarios. Elaboración propia.

#### 4. OTRAS PRUEBAS COMPLEMENTARIAS

Ante la clínica de insuficiencia cardiaca y renal se realiza:

- Radiografía de tórax: infiltrados intersticioalveolar bilaterales en contexto de EAP, datos de IC.
- POCUS Abdominal- pulmonar: línea B bilaterales. Aumento de ecogenicidad bilateral parénquima renal sin datos de hidronefrosis ni aumento de tamaño de parénquima renal.
- Ecografía abdominal: asimetría renal con riñón derecho de menor tamaño e hiperecogenicidad cortical difusa en ambos riñones sugestivo de nefropatía médica.
- Doppler renal: hallazgos sugestivos de nefropatía médica. No signos ecográficos de estenosis de las arterias renales.
- ECG: ritmo sinusal a 114 lpm, Pr normal, QRS 110 ms, datos de HVI, ligero descenso del ST isodifásico difuso.
- Ecoardiograma: hipertrofia moderada de VI con fracción de eyección normal, insuficiencia aortica ligera, ventrículo derecho normofuncionante, sin signos de hipertensión pulmonar.
- RM Craneal: afectación de sustancia blanca bilateral y con una marcada hiperintensidad de señal en los tractos corticoespinales que pudiera estar en relación con cuadro de encefalopatía tóxico-metabólica, a valorar posible origen urémico.

#### 5. EVOLUCIÓN

El paciente ingresa en UCI por un cuadro compatible con un síndrome hemolítico urémico atípico con debut en forma de emergencia hipertensiva e insuficiencia cardiaca de predominio izquierdo, infiltrados bilaterales en la radiografía de tórax y elevación de marcadores de daño miocárdico sin curva y en descenso, además de afectación oftalmológica en forma de retinopatía hipertensiva grado III, precisando de tres fármacos hipotensores para su control (Labetalol, Nitroglicerina y Urapidilo) asociado a un fracaso renal agudo con creatinina de 17 mg/dL [0.7-1.20 mg/dL] y una anemia hemolítica microangiopática precisando inicio de hemodiafiltración veno-venosa (HDFVVC) y transfusión de 2 concentrados de hemáties, inicio de Eculizumab y una antibioterapia profiláctica con ciprofloxacino. A las 72 horas de inicio del tratamiento existe una mejoría clara de los datos de hemólisis con hemoglobina de 9.8 g/dL [13.0-16.8 g/dL], plaquetas de 258 x 1000/ $\mu$ L [140-450 x 1000/ $\mu$ L], LDH 548 U/l [135-214 U/l], bilirrubina 0.9 mg/dL [0.2-1.0 mg/dL], haptoglobina 87.5 mg/dL [35.0-152.0 mg/dL] y mejoría de la función renal con creatinina de 5.24 mg/dL [0.7-1.20 mg/dL]; FG 14 mL/min con hiperfosfatemia por lo que se decide traslado a planta de Nefrología.

Durante su ingreso en planta se objetiva mejoría completa de la afección hematológica, pero sin recuperación de la función renal. Se plantea la realización de biopsia renal que se desestima por la alteración estructural que presentan los riñones (pequeño tamaño sin diferenciación cortico-medular). La elevación de PTH orienta hacia un hiperparatiroidismo secundario a enfermedad renal crónica (ERC), presenta una afectación de la vía piramidal bilateral

simétrica en contexto de encefalopatía tóxico-metabólica urémica que no precisa de tratamiento específico. Se le

explican al paciente las opciones de tratamiento sustitutivo renal y la opción de trasplante renal una vez completado estudio y tras realización de las oportunas pruebas necesarias. Se solicitan por tanto estudio del complemento para valorar el riesgo de recidiva de MAT en un futuro trasplante. Por lo atípico del caso se plantea la posibilidad de pensar que se tratara de una glomerulonefritis IG A evolucionada, por la probable tolerancia al deterioro renal progresivo más que en brotes de MAT.

El paciente recibió 4 dosis de Eculizumab y se desestimó continuar con el tratamiento por la escasa mejoría de la función renal. Finalmente recibe de manera ambulatoria 3 sesiones de hemodiálisis por semana en su hospital de referencia.

#### 6. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

El SHUa es una enfermedad rara, su incidencia en Europa es de 0.11 casos /millón de habitantes y la prevalencia según la EMA se estima que puede estar en 3.3 paciente/millón de habitantes en menores de 18 años y cifras algo inferiores en adultos. Afecta en mayor medida a niños y adultos jóvenes, aunque puede aparecer a cualquier edad. Es más frecuente que el inicio de la enfermedad sea antes de los 18 años, y la distribución entre sexos es similar, no obstante, parece observarse una tendencia al sexo femenino cuando la enfermedad aparece en edad adulta.

En los últimos años se han identificado diversas mutaciones en genes del sistema del complemento asociados a SHUa, que explicarían aproximadamente el 60% de los casos de SHUa. Estas mutaciones y polimorfismos asociados a SHU demuestran que se produce por una deficiente regulación de la activación del complemento sobre la superficie celular, provocando un daño endotelial mediado por activación del C5 y la vía terminal del complemento. Estas mutaciones están identificadas en los genes FHC, FIC y PCM que codifican las proteínas regulares del complemento factor H (FHC), factor I (FIC) y la proteína del cofactor de membrana (PCM). También se han observado anticuerpos inhibitorios en el 5-10% de los pacientes, casi siempre dirigidos contra la porción C- terminal del FHC. En menor porcentaje se han observado mutaciones en el factor C3, el factor B y en la trombomodulina. Además, se ha descrito que se necesitan factores ambientales o genéticos adicionales para que se desarrollen manifestaciones clínicas en pacientes con una penetración incompleta genética de SHUa.

Para dar respuesta a por qué la afectación renal es protagonista en esta entidad clínica, se estudia la hipótesis de que la estructura fenestrada del glomérulo haga que la matriz subendotelial este expuesta de forma mas constante a las proteínas circulantes.

Las manifestaciones clínicas aparecen de forma aguda, solo un 20 % de los pacientes tienen un inicio más progresivo, con anemia subclínica, trombocitopenia fluctuante y función renal conservada. La tríada clásica de anemia hemolítica, trombocitopenia y afectación renal, se puede acompañar de

otros síntomas, ya que el fenómeno de MAT afecta a la microvasculatura de otros órganos (cerebro, corazón, intestino, páncreas y pulmones) entre otros. La incidencia de hipertensión arterial, por sobrecarga de volumen o lesión

vascular es frecuente, en ocasiones observamos HTA, proteinuria y una insuficiencia renal incipiente como únicos datos de MAT. La afectación extrarrenal más frecuente es de tipo neurológico, apareciendo irritabilidad, confusión,

<b>Procedimientos generales</b>	
<p>Historia clínica completa, incluyendo toma de fármacos, datos de enfermedades sistémicas y antecedentes personales y familiares</p> <p>Exploración física completa, incluyendo examen de fondo de ojo</p> <p>Analítica general habitual de sangre y orina</p> <p>Determinación niveles de haptoglobina</p> <p>Determinación de los niveles de complemento sérico</p> <p>Frotis de sangre periférica • Serología de enfermedades sistémicas (ANA, anti-ADN, ANCA, antic-Scl-70, anticentrómero)</p> <p>Determinación de anticuerpos anticardiolipina y anticoagulante lúpico</p> <p>Serología para VIH, VHC, VHB, CMV y H1N1</p> <p>Estudio completo de coagulación, con fibrinógeno, productos de degradación del fibrinógeno y dímeros D</p> <p>Investigación de infecciones bacterianas causantes de SHU típico y realización de la prueba de la toxina Shiga (si la clínica orienta en este sentido)</p>	
<b>Pruebas diagnósticas específicas</b>	
Infección por STEC	Muestra fecal si diarrea o frotis rectal: cultivo de STEC (MacConkey para E. coli O157:H7); PCR para genes Stx O157:H7 y otros serotipos, y otras características virulentas; ELISA y/o ensayo de cultivo de tejido celular Vero para suero Stx: anticuerpos anti-LPS contra serotipos prevalentes
Infección por neumococos	Cultivo bacteriano (generalmente) de fluidos corporales estériles; DAT (test de Coombs), prueba viral (respiratoria), radiografía de tórax (derrame pleural asociado de modo característico en casi todos los casos), citoquímica y cultivo de LCR en los casos secundarios a meningitis por neumococo
Alteraciones de la regulación del complemento	C3, C4 (plasma/suero), AH50, FH, FI, FB (plasma/suero); autoanticuerpos anti-FH; expresión de MCP superficial en leucocitos (leucocitos poli o mononucleares mediante prueba FACS); análisis de mutación en el FH, FI, MCP, C3, FB±THBD
Deficiencia ADAMTS13 (adquirida o hereditaria)	Actividad plasmática de ADAMTS13 o dosis (ELISA)±inhibidor
Metabolismo de la cobalamina: aciduria metilmalónica	Cromatografía de aminoácidos en plasma/orina (hiperhomocisteinemia, hipometioninemia; homocistinuria); cromatografía de ácidos orgánicos en orina (aciduriametilmalónica); análisis de mutación en el gen MMACHC
<p>ADAMTS13: <i>A Disintegrin And Metalloproteinase with a ThromboSpondin type 1 motif, member 13</i>; ADN: ácido desoxirribonucleico; ANA: anticuerpo antinuclear; ANCA: anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos; CMV: citomegalovirus; DAT: prueba de antiglobulina directa; ELISA: ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas; FACS: separador celular activado por fluorescencia; FB: factor B del complemento; FH: factor H del complemento; FI: factor i del complemento; LCR: líquido cefalorraquídeo; MCP: proteína cofactor de membrana; SHU: síndrome hemolítico urémico; STEC: <i>Escherichia coli</i> productor de toxina Shiga; THBD: trombomodulina; VHB: virus de la hepatitis B; VHC: virus de la hepatitis C; VIH: virus de la inmunodeficiencia humana.</p>	

**Tabla 3.** Pruebas diagnósticas y procedimientos recomendados a pacientes con microangiopatía. Adaptado de: Campistol JM y col. 2015.

convulsiones, accidente cerebrovascular, encefalopatía, hemiparesia, alteraciones visuales y coma.

Existen 2 procedimientos terapéuticos iniciales para llevar a cabo en el SHU, uno de ellos encaminado a dar soporte a las complicaciones y otro a frenar y revertir la situación de MAT.

En la terapia plasmática existen dos modalidades, la infusión de plasma fresco que aporta reguladores del complemento y el recambio plasmático, donde se reemplaza el plasma del paciente por plasma fresco congelado, aportando proteínas reguladoras del complemento como en la anterior técnica, pero además se eliminan los inhibidores solubles del complemento disfuncionales. Como terapia farmacológica desde el año 2011 se usa Eculizumab, un anticuerpo monoclonal humanizado que inhibe la activación del C5, bloqueando la generación de la molécula proinflamatoria C5a y la formación del complejo de ataque de membrana. Su administración ha demostrado la interrupción rápida y sostenida del proceso de MAT, con una mejora significativa de la función renal a largo plazo y una reducción importante

de la necesidad de diálisis y de la terapia plasmática.

#### **BIBLIOGRAFÍA GENERAL**

- Campistol JM, Arias M, Ariceta G, Blasco M, Espinosa L, Mario Espinosa M y *col.* Actualización en síndrome hemolítico urémico atípico: diagnóstico y tratamiento. Documento de Consenso. Nefrología 2015; 35 (5):421-447.
- Contreras E, De la Rubia J, Del Río-Garma J, Díaz-Ricart M, García-Gala JM, Miguel Lozano M. Guía diagnóstica y terapéutica de las microangiopatías trombóticas del Grupo Español de Aféresis. Med Clin. 2015;144(7):331.e1-331e13.
- Mastrapasqua SC, Escobar OA, Martínez MC, Melideo HM, Ramírez MH. Síndrome urémico hemolítico atípico del adulto. Presentación de un caso y revisión de la bibliografía. Rev Nefrol Dial Traspl. 2016; 36 (3): 174-178

# 38- SINDROME NEFRÓTICO EN FORMA DE CUERPOS OVALES GRASOS EN ORINA

**Autores:** Maialen Palomino Alonso; Alba María Fernández del Pozo.

**Palabras clave:** Cuerpos ovals grasos, Cruz de Malta, Urianálisis.

## 1. INTRODUCCIÓN

El síndrome nefrótico es un trastorno renal que se define como una excreción urinaria superior a 3 gramos de proteína al día, asociada a una alteración del glomérulo, con aparición de edema e hipoalbuminemia. Se presenta con mayor frecuencia en niños y puede deberse a causas primarias o secundarias.

El diagnóstico se establece bajo sospecha en pacientes que presentan edema y proteinuria en un análisis rutinario de orina. Se confirma posteriormente con la determinación de proteinuria mayor a 3 gramos en orina, recogida durante 24 horas o mediante el cociente entre proteínas y creatinina en orina de una micción. Además, el análisis del sedimento urinario puede revelar la presencia de cilindros (hialinos, granulares, grasos, céreos o de células epiteliales). Cuando hay presencia de lípidos en la orina, estos pueden encontrarse bien de manera libre, o bien dentro de las células tubulares (cuerpos grasos ovals), o de los cilindros (cilindros grasos). Estos hallazgos se asocian a un trastorno glomerular, que pueden ser el detonante/causante del síndrome nefrótico.

## 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

### 2.1 Motivo de consulta:

Varón de 21 años, que acude a urgencias en noviembre de 2022 por presentar aumento progresivo de edemas en miembros inferiores.

### 2.2 Antecedentes personales:

Como antecedentes sociales, se trata de un varón de raza negra natural de Costa de Marfil, con llegada a España en junio de 2018. No cuenta con red de apoyo, ni familiares en España, ya que se encuentran en su país de origen. Tampoco recibe prestación económica y se encuentra en situación de calle.

Fue fumador, pero actualmente con hábito tabáquico inactivo. Presenta varias enfermedades previas y un historial de mala adherencia al tratamiento:

- Factores de riesgo cardiovascular: dislipidemia y Diabetes Mellitus tipo 2 en tratamiento con metformina.
- Nefropatía de cambios mínimos. Con inicio de inmunosupresión en febrero de 2019 con cortico-dependencia. Se encontraba en atención médica por nefrología, pero con ligera pérdida de seguimiento, con última revisión en febrero de 2022 donde se mantenía en remisión completa con 15 mg al día de prednisona. Como tratamiento inmunosupresor, se le pautó:

- Micofenolato de mofetilo, que no fue eficaz, por lo que fue suspendido en julio de 2020.

- 2 dosis de 700 mg de Rituximab en octubre de 2020 y en junio de 2021.

- Otros: paludismo, hepatopatía. Hepatitis B con reactivación con carga viral positiva a título bajo tras tratamiento inmunosupresor. A su llegada a urgencias ya se encontraba con carga viral negativa.

### 2.3 Antecedentes familiares:

No hay descritos antecedentes familiares de interés.

### 2.4 Enfermedad actual:

Acude a urgencias por presentar aumento progresivo de edemas en miembros inferiores, acompañado de dolor abdominal de 4 días de evolución. Además, refiere aumento del perímetro abdominal con oliguria. No presenta fiebre, dolor torácico, disnea o mialgias. Informa del abandono de la toma de prednisona desde hace 2 semanas.

### 2.5 Exploración física:

Durante la exploración física el paciente se encuentra consciente y orientado:

- Temperatura de 36,5°C.
- Tensión sistólica y diastólica 126-91 mmHg.
- Frecuencia cardíaca de 84 latidos por minuto.
- Glucemia capilar: 124 mg/dL.

En la palpación del abdomen este se encuentra distendido con oleada positiva. Blando y depresible. Sin dolor a la palpación profunda, donde además no se palpan masas ni megalias. No hay signos de irritación peritoneal.

Presenta edemas que alcanzan la raíz de miembros inferiores. Sin embargo, no hay signos de tromboembolismo venoso.

En la ecografía realizada a pie de cama se objetiva ascitis peritoneal.

## 3. INFORME DEL LABORATORIO

A su llegada a urgencias se solicita al paciente análisis bioquímico de sangre y orina junto con prueba de urocultivo.

En la analítica sanguínea (Tabla 1) se observa función renal alterada e hipoproteinemia con importante hipoalbuminemia. Sin alteraciones en la coagulación. El hemograma resultó bastante anodino salvo eosinofilia de 900 células/ $\mu$ L, que en las posteriores analíticas normaliza. En el análisis bioquímico de orina (Tabla 1), destaca una proteinuria en rango nefrótico

y un cociente proteínas/creatinina de 9,66.

En el estudio del sistemático de orina, la tira reactiva mostraba glucosuria (150mg/dL) y proteinuria (600mg/dL). En el sedimento urinario se observan unos 13 hematíes por campo, 64 leucocitos por campo con bacteriuria intensa, células transicionales y cilindros granulosos. Llama la atención la presencia de cuerpos ovals grasos. Al microscopio óptico estos elementos se presentaban como células con inclusiones de partículas muy refringentes y cuyo núcleo era difícil de observar. En el microscopio de contraste de fases se hacía más notoria esta refringencia (Figura 1A-B). Al examinar el sedimento bajo el microscopio de luz polarizada, se observó la característica forma de la cruz de Malta (Figura 1C), indicando la presencia de colesterol en el interior de las gotas.

Pese al hallazgo de bacteriuria y leucocitos, el urocultivo resultó negativo.

#### 4. EXPLORACIONES COMPLEMENTARIAS

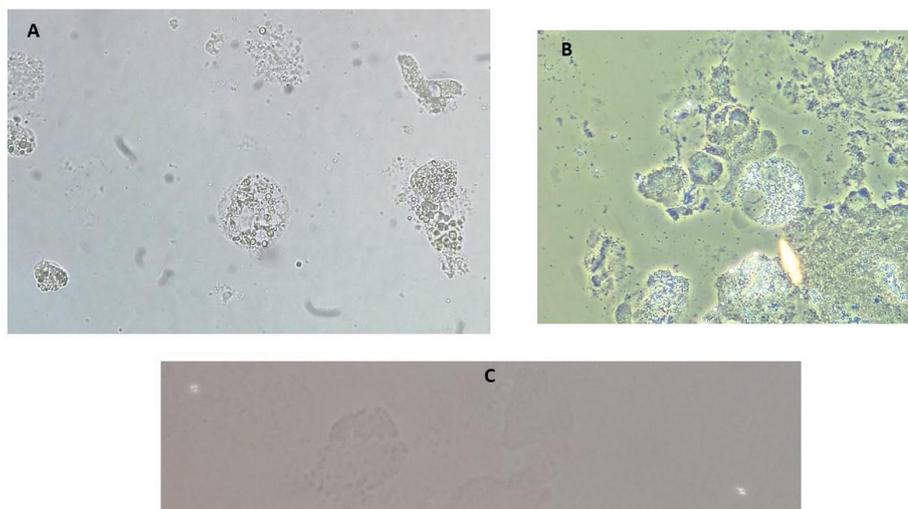
El paciente es ingresado en la planta de nefrología a fin de finalizar el estudio, así como para su monitorización y tratamiento.

En el análisis serológico, tanto el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) como el virus de la hepatitis C (VHC) resultan negativos. Sí se observa infección pasada de hepatitis B (anticuerpos anti-HBcore positivos, anticuerpos anti-HB de superficie negativos y antígeno HB de superficie negativo).

El estudio amplio de autoinmunidad fue negativo, y a nivel celular, se observa una disminución en la concentración la población de linfocitos B CD19+. Se refleja en una reducción de la concentración de inmunoglobulinas G, aunque con inmunoglobulinas A y M dentro de rango de referencia. En la inmunofijación en suero se observan bandas de aspecto policlonal y las concentraciones de proteínas del

Prueba	Unidades	Resultado	Valores de referencia
<b>SUERO</b>			
<b>Creatinina</b>	mg/dL	2,86	0,70 – 1,20
<b>Filtrado glomerular (CDK-EPI)</b>	ml/min/173m <sup>2</sup>	30	>=60
<b>Urea</b>	mg/dL	150	20 – 48
<b>Sodio</b>	mEq/L	137	136 – 145
<b>Cloro</b>	mEq/L	106	98 – 107
<b>Proteínas totales</b>	g/dL	5,3	6,4 – 8,3
<b>Albúmina</b>	g/dL	1,6	3,5 – 5,0
<b>Calcio</b>	mg/dL	7,5	8,6 – 10,2
<b>Calcio corregido por albúmina</b>	mg/dL	9,4	8,6 – 10,2
<b>ORINA</b>			
<b>Sodio</b>	mEq/L	17	54 – 150
<b>Cloro</b>	mEq/L	16	46 – 168
<b>Creatinina</b>	mg/dL	160,4	39 – 259
<b>Proteínas</b>	g/dL	15,490	<=0,060
<b>Cociente Proteínas/Creatinina</b>		9,66	

**Tabla 1.** Resultados más destacables del estudio bioquímico de sangre y orina a su llega a urgencias. En cursiva, resultados fuera del rango de referencia. Elaboración propia.



**Figura 1.** Cuerpos ovales grasos hallados en el sedimento urinario. **A)** Microscopía óptica donde se observaban inicialmente unas inclusiones en las células de los túbulos renales. **B)** Microscopía de contraste de fases, donde destacan estas inclusiones lipídicas por su refringencia. **C)** Microscopio de luz polarizada que muestra la característica Cruz de Malta, revelando la presencia de colesterol en el interior estas inclusiones. Elaboración propia.

complemento no muestran una pérdida renal (C3 normal y C4 ligeramente elevado).

En las sucesivas determinaciones analíticas se pone de manifiesto la presencia de reactantes de fase aguda, con concentraciones elevadas de ferritina, fibrinógeno, dímeros D, complemento (C4) y concentraciones disminuidas de transferrina, entre otras. La proteína C reactiva, sin embargo, no se eleva durante todo el proceso.

La hemoglobina glicada (IFCC: 21,3 mmol/mol (VR: 20-37,7 mmol/mol) y DCCT: 4,1% (VR: 4-5,6%)) refleja un buen control de la diabetes. A nivel lipídico presenta una elevación del colesterol total de 385 mg/dL (VR:  $\leq$ 200 mg/dL), con LDLc y HDLc en 194 (VR:  $\leq$ 100 mg/dL) y 140 mg/dL (VR:  $\geq$ 55 mg/dL) respectivamente. Junto con elevación de triglicéridos hasta 253 mg/dL (VR: 50-200 mg/dL), que resulta similar a estudios previos realizados y en relación a su dislipidemia de base.

El estudio del metabolismo óseo muestra un aumento de la paratohormona en 79,4 pg/mL (VR: 15-65 pg/mL) y una concentración mínima de vitamina D de 3 mg/mL (VR: 20-40 mg/mL). La función tiroidea se presentaba sin alteraciones, con concentraciones de las hormonas tiroideas (T3 y T4 libres) y de TSH dentro de rango.

Se realiza también estudio en orina de 24 horas, con una diuresis de 1.050 mL donde, como cabía esperar, el aclaramiento de creatinina se encontraba bastante disminuido (29,6 ml/min). Destaca una proteinuria en rango nefrótico de 10,58 g (VR:  $\leq$ 0,140 g), donde la albúmina supone 6.841,9 mg (VR:  $\leq$ 30 mg). Osmolalidad sin alteraciones, en 405 mOsm/kg.

Por otro lado, la ecografía abdominal muestra ascitis moderada e incidentalmente se observa derrame pleural bilateral. No hay hallazgos ecográficos significativos en relación al motivo de petición original.

El electrocardiograma y ecocardiograma no muestran

alteraciones significativas.

## 5. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Dado que el paciente había presentado como antecedentes personales una nefropatía de cambios mínimos en tratamiento, pero con mala adherencia al mismo, se sospecha de evolución a síndrome nefrótico.

## 6. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Edema generalizado con excesiva colección líquida en el espacio extravascular (anasarca) por síndrome nefrótico clínico y bioquímico en relación con recaída de enfermedad de cambios mínimos cortico-dependiente.

## 7. EVOLUCIÓN

El paciente presenta mejoría clínica significativa con disminución progresiva de la sobrecarga hídrica tras el inicio de tratamiento con furosemida a altas dosis y corticoides.

Durante el proceso aparece un empeoramiento de la función renal por depleción de volumen intravascular, que se asocia a la hipoproteinemias e hipoalbuminemia severa. Va mejorando posteriormente tras iniciar tratamiento con albúmina (Tabla 2). También el estudio seriado de orina va reflejando una mejoría a nivel de la proteinuria que va disminuyendo de forma oscilante y se va recuperando el cociente proteínas/creatinina.

Por otra parte, aunque el urocultivo resultó negativo, se le administra un ciclo de 6 días de ceftriaxona ya que como el sedimento urinario mostraba datos de infección, se quería comprobar si la microhematuria remitía tras la resolución de la posible infección. Tras el ciclo de ceftriaxona se confirma desaparición de microhematuria.

Prueba [V.R.]	Fechas 2022							
	13/11	14/11	15/11	16/11	18/11	21/11	25/11	12/12
Srm-Creatinina [0,70 – 1,20 mg/dL]	2,86		4,07	4,08	2,52	0,99	0,83	0,80
Srm-Proteínas totales [6,4 – 8,3 g/L]	5,3		4,5	5,1	4,7	4,9	5	6,1
Srm-Albúmina [3,5 – 5,0 g/dL]	1,6		1,8	1,9	2,1	2,6	2,7	3,5
Uri-Proteínas [ $\leq 0,060$ g/dL]	15,490	7,430	15,760		5,350	0,660	2,230	1,850
Uri-Cociente Proteínas/Creatinina	9,66	7,30	7,78		6,03	9,91	4,06	3,14

**Tabla 2.** Concentraciones de parámetros relacionados con la evolución de la función renal del paciente en suero (Srm) y orina (Uri). VR: valores de referencia. En cursiva, resultados fuera del rango de referencia. Elaboración propia.

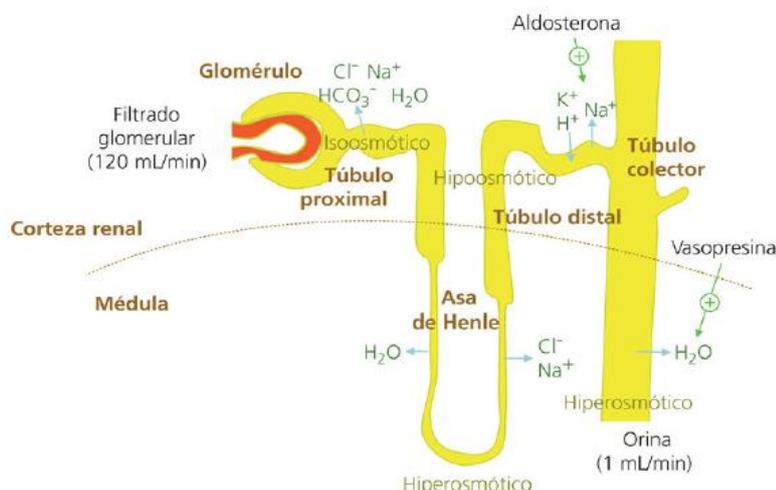
Por otro lado, durante el ingreso presentó epigastralgia y deposiciones diarreicas, pero sin aislamientos microbiológicos, y posteriormente corregidas.

La ascitis observada en la ecografía en relación con el síndrome nefrótico, se resuelve tras el tratamiento diurético administrado, tras lo cual el paciente es dado de alta para su seguimiento periódico por nefrología. Se le pauta tratamiento con prednisona y metformina como hasta el momento, junto con furosemida, carbonato/colecalciferol y enoxaparina sódica. Acude a los controles de seguimiento de forma regular. Habitualmente presenta cifras de tensión arterial bien controlada y no presenta edemas ni alteraciones destacables en las analíticas. Se acuerda reducir la dosis de prednisona si continúa sin edemas.

## 8. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

Los riñones se encuentran localizados en la parte posterior del abdomen, a ambos lados de la columna vertebral. Se pueden diferenciar dos regiones, la más externa es la corteza renal y la más interna la médula renal. La unidad funcional es la nefrona, estimándose aproximadamente un millón en cada riñón.

La nefrona presenta varias partes (Figura 2), el glomérulo situado en la corteza renal es un ovillo de capilares que provienen de la arteriola aferente y drenan en la arteriola eferente. El glomérulo se encuentra rodeado por la cápsula de Bowman, donde continúa el túbulo contorneado proximal que se introduce en la médula renal con la porción descendente del asa de Henle. La porción ascendente vuelve a penetrar en la corteza y finaliza en el túbulo



**Figura 2.** Partes de la nefrona, como unidad funcional del riñón. Tomado de: González Hernández A, 2019.

contorneado distal y el conducto colector.

La filtración se produce en el glomérulo, el cual presenta una membrana semipermeable que permite el paso libre de agua y electrolitos, pero es impermeable a moléculas de mayor tamaño.

En cuanto a las proteínas, en condiciones normales se filtran aquellas de bajo peso molecular y pequeñas cantidades de albúmina. La mayoría de las proteínas filtradas se reabsorben en el túbulo proximal y sólo una mínima cantidad es excretada finalmente en la orina. Se considera excreción fisiológica de proteínas totales en orina cuando no se superan los 150mg/24h. Por encima de este valor se habla de proteinuria y se considera albuminuria si la concentración de albúmina es superior a 30mg/24h. Proteinurias superiores a 3,5g/24h con albuminuria por encima de 2.200 mg/24h se califican como de rango nefrótico.

La proteinuria puede aparecer en diversas situaciones fisiológicas o patológicas. Como clasificación se puede diferenciar:

- Proteinuria transitoria: derivada de ejercicio intenso, gestación, fiebre, ...
- Proteinuria por ortostatismo.
- Proteinuria por sobrecarga filtrada o prerrenal: consiste en la eliminación aumentada de proteínas de bajo peso molecular debido a un aumento de su síntesis (mieloma múltiple, leucemia, rabdomiolisis,...).
- Proteinuria renal:
  - Proteinuria glomerular: alteraciones en la barrera de filtración glomerular. Como consecuencia se filtran gran cantidad de proteínas plasmáticas, fundamentalmente albúmina junto con otras proteínas de bajo peso molecular, o en estados avanzados, incluso proteínas de muy alto peso molecular.
  - Proteinuria tubular: déficit en la reabsorción de las proteínas de bajo peso molecular filtradas por el glomérulo (cadenas ligeras de inmunoglobulinas y  $\beta$ 2-microglobulinas).
- Proteinuria post-renal: aparece proteinuria de Tamm Horsfall (proteína del epitelio tubular), enzimas de membrana y otras proteínas derivadas de las hemorragias de las vías urinarias en procesos inflamatorios del tracto urinario. se asocia a infecciones del tracto urinario, litiasis renales y prostatitis.

### 8.1 Síndrome nefrótico:

El síndrome nefrótico se define como una excreción urinaria de proteínas superior a 3 gramos al día (por alteración del glomérulo), que se acompaña de la presencia de edema, hipoalbuminemia e hiperlipemia.

Tiene mayor prevalencia en niños, sobre todo la enfermedad de cambios mínimos, apareciendo entre el año y medio y los cuatro años, pero se trata de una enfermedad que puede aparecer a cualquier edad. Las causas asociadas varían según el momento de aparición y se pueden dividir en:

- Causas primarias. Generalmente se observa en niños, donde suele ser idiopático. Suele estar originado por la enfermedad de cambios mínimos, la glomerulosclerosis focal segmentaria y la nefropatía membranosa.
- Causas secundarias, que explican menos del 10% de los casos infantiles, pero más del 50% de los casos en adultos. Las causas más frecuentes son la nefropatía diabética y la preeclampsia. Otras causas menos frecuentes son la amiloidosis, la nefropatía asociada con el VIH, neoplasias, fármacos o las infecciones.

La proteinuria se asocia a cambios en las células endoteliales de los capilares, la membrana basal del glomérulo o los podocitos, que son los encargados de filtrar las proteínas séricas de forma selectiva según su tamaño y su carga. Es por tanto una expresión de una alteración en la barrera de filtración.

Entre los síntomas primarios se describen anorexia, malestar y orina turbia, causada por la alta concentración de proteínas. Esta alta concentración de proteínas provoca además retención de líquidos causando disnea, artralgia y dolor abdominal.

Se asocian diversas complicaciones al síndrome nefrótico, al producirse pérdida urinaria de proteínas macromoleculares, especialmente albúmina, además de opsoninas, inmunoglobulinas, eritropoyetinas, transferrina, proteínas de unión a hormonas y antitrombina III:

- Edema. Debido a la reabsorción de sodio y agua, secundario a la disminución de la presión oncótica capilar. En casos más graves puede llegar a producirse ascitis, anasarca y derrames pleurales.
- Infecciones por pérdidas de inmunoglobulinas y factores del complemento.
- Anemia.
- Alteraciones en la función tiroidea.
- Hipercoagulación y tromboembolias por pérdida urinaria de antitrombina III.
- Desnutrición proteica en niños.
- Dislipidemia. Por estimulación de la síntesis hepática de lipoproteínas debido al descenso de la presión oncótica capilar. La lipiduria se manifiesta con aparición de cilindros grasos o cuerpos ovals grasos en el sedimento urinario.
- Enfermedad coronaria e hipertensión arterial.
- Disfunción tubular proximal (Síndrome de Fanconi adquirido).

Cuando se confirma la existencia de síndrome nefrótico es necesario realizar una buena historia clínica y una exploración física completa. Hay que determinar si existe presencia de diabetes mellitus, enfermedades sistémicas, lupus eritematoso sistémico, enfermedades víricas (hepatopatías o VIH) o tratamiento con determinados fármacos. Se debe realizar estudio serológico (virus hepatitis B, C y VIH), determinación de ANA, anti-DNA, complemento, crioglobulinas, hormonas tiroideas y proteinograma. La biopsia renal estaría indicada en el paciente adulto donde no

se conozca la etiología.

## 8.2 Cuerpos ovals grasos en orina:

Las células originadas en los túbulos renales varían de tamaño y forma en función de la zona de donde procedan (túbulo contorneado proximal, distal o conducto colector). Su presencia en número aumentado se asocia a condiciones que causan daño tubular como necrosis tubular aguda, reacciones tóxicas, rechazo de injertos o pielonefritis.

Como una de las funciones que presentan estas células es la reabsorción del filtrado glomerular, es frecuente que contengan sustancias del filtrado.

En el síndrome nefrótico, estas células pueden cargarse de lípidos presentes en el filtrado glomerular, pasando a llamarse cuerpos ovals grasos, que pueden aparecer junto con gotas de grasa libres. La lipiduria se asocia a daño en el glomérulo, pudiendo aparecer también como consecuencia de necrosis tubular grave, diabetes mellitus y traumatismos (liberación de grasa de la médula ósea tras fractura de huesos largos).

Las gotas lipídicas están compuestas por triglicéridos, grasas neutras y colesterol. Se pueden identificar bien usando tinciones (Sudán III u Oil Red) que tiñen los triglicéridos y las grasas neutras, o utilizando microscopía de luz polarizada. Observando el sedimento con esta tecnología es posible observar que aquellas gotas que contienen colesterol adoptan una forma característica denominada “Cruz de

Malta”. Las gotas de grasa libres también se tiñen o polarizan la luz de acuerdo a su composición.

## BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- O’Brien F. Generalidades sobre el síndrome nefrótico. St. Louis (WA): Manual MSD; 2021 Disponible en: <https://www.msdmanuals.com/es-es/professional/trastornos-urogenitales/glomerulopat%C3%ADas/generalidades-sobre-el-s%C3%ADndrome-nefr%C3%B3tico>
- Rivera Hernández F, Anaya Fernández S, Romera AM, Vozmediano Poyatos C. Síndromes Clínicos en Nefrología. España [revisado 2020]. En: Lorenzo V, López Gómez JM, editores. Nefrología al día. ISSN: 2659-2606. Disponible en: <https://www.nefrologiaaldia.org/258>
- King Strasinger S, Schaub Di Lorenzo M. Análisis de orina y de los líquidos corporales. 5º ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana, 2010.
- González Hernández A. Principios de bioquímica clínica y patología molecular. 2ª ed. Barcelona: Elsevier. España; 2019.

# BLOQUE X

---

# PEDIATRÍA

# 39- HIPERFOSFATASEMIA TRANSITORIA BENIGNA DE LA INFANCIA: HALLAZGO A TENER EN CUENTA EN PEDIATRÍA

**Autores:** Jesús Cabanes Madrid, Cecilia Cueto-Felgueroso Ojeda

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

**Palabras clave:** Fosfatasa alcalina, Pediatría, Hiperfosfatasemia

## 1. INTRODUCCIÓN

La fosfatasa alcalina (FA) comprende un grupo de isoenzimas localizadas en la cara externa de la membrana plasmática de las células, que catalizan la hidrólisis de ésteres de fosfato orgánico presentes en el espacio extracelular. Este conjunto de isoenzimas se produce y actúa en distintos tejidos: óseo, hepático, placentario, intestinal (mucosa del íleon), renal y leucocitario, entre otros.

En población general, más del 80% de la FA presente en el suero, es procedente del hígado y los huesos y, en menor medida, del intestino. Particularmente en los niños, el 85% de estas isoenzimas son de origen óseo y el resto fundamentalmente hepático.

Son cuatro los genes que codifican a todo el conjunto de isoenzimas de la FA. De ellos, tres codifican la FA específica de tejido intestinal, placentario y de células germinales, mientras que el cuarto gen codifica la FA no específica de tejido (FANET), que es expresada de forma abundante en el esqueleto, hígado, riñón y dientes en desarrollo.

La FANET está principalmente implicada en la mineralización fisiológica de tejido duro, mediante la hidrólisis del pirofosfato para obtener el fosfato inorgánico necesario para dicha mineralización.

La determinación de los niveles de FA en suero tiene un alto valor diagnóstico, y se ha convertido en una de las principales pruebas solicitadas al laboratorio de bioquímica, especialmente para el diagnóstico y seguimiento de colestasis y ciertas enfermedades relacionadas con el hueso.

El aumento de los niveles séricos de FA se conoce como hiperfosfatasemia. Como se ha comentado anteriormente, esta elevación puede darse en situaciones patológicas, sobre todo ante una enfermedad ósea o hepatobiliar. Sin embargo, también puede elevarse en situaciones fisiológicas. Particularmente en niños, una de las principales causas de elevación de la FA es la hiperfosfatasemia transitoria benigna de la infancia (HFTBI).

La HFTBI consiste en una elevación importante de los niveles de FA en suero sin evidencia de patología ósea o hepática, de carácter transitorio y sin secuelas posteriores. Los principales criterios diagnósticos de la HFTBI establecidos son:

- Niños menores de 5 años
- Acentuada y aislada elevación de los niveles de FA (superior a 1000 UI/L),
- Sin signos ni síntomas de enfermedad hepática u ósea.

- Normalización de los valores de FA antes de 4 meses.

## 2. BREVE HISTORIA CLÍNICA

### 2.1 Motivo de consulta:

Niño de 1 año y 8 meses que es citado en la consulta de Digestivo de Pediatría en noviembre de 2021 por presentar diarrea desde hace un mes. Ya en septiembre de 2021, y coincidiendo con el comienzo de la guardería, tuvo un episodio de otitis acompañado de diarrea de 10 días de evolución. Posteriormente, en octubre de 2021, presentó otro cuadro de diarrea aguda que coincidió con otros casos en la familia. A pesar de que en el resto de la familia la diarrea remitió tras unos días, en el caso de nuestro paciente se ha mantenido desde entonces, provocando deposiciones hasta tres veces al día.

### 2.2 Antecedentes personales:

Sin antecedentes personales de interés.

### 2.3 Antecedentes familiares:

Primer hijo de padres sanos, sin antecedentes de interés. No existen antecedentes de enfermedad celíaca en la familia ni otras enfermedades autoinmunes.

### 2.4 Enfermedad actual:

El paciente presenta un cuadro de distensión abdominal acompañado de pérdida de apetito. Realiza hasta tres deposiciones diarias de consistencia variable, muchas de ellas líquidas o pastosas, siendo éstas de un color pálido.

### 2.5 Exploración física:

En la consulta, el paciente presenta buen estado general, así como buen color de piel y mucosas. Sin embargo, manifiesta un ligero hábito de malabsorción, incluyendo distensión abdominal junto con pérdida de masa muscular en las extremidades, sin apreciar visceromegalias en la palpación abdominal.

## 3. INFORME DEL LABORATORIO

Ante la diarrea crónica del paciente sin causa conocida aparente, se solicitan diversas pruebas de laboratorio: hemograma, bioquímica general, serología para la enfermedad celíaca e inmunoglobulinas, así como pruebas microbiológicas ante la sospecha de un cuadro infeccioso (coprocultivo y estudio de parásitos en heces).

Grupo de pruebas	Prueba	Resultado	Intervalo de referencia
<b>Hemograma</b>	Hemoglobina (g/dL)	13.4	11.1-14.1
<b>Bioquímica general</b>	Sodio (mEq/L)	139	136-145
	Potasio (mEq/L)	5.07	3.50-5.10
	Cloro (mEq/L)	104	98-107
	Proteínas Totales (g/dL)	6.9	6.0-8.0
	Albúmina (g/dL)	4.4	3.8-5.4
	Calcio (mg/dL)	10.1	9.0-11.0
	Fósforo (mg/dL)	4.9	3.1-6.0
	ALT (GPT) (U/L)	12	5-39
	AST (GOT) (U/L)	26	5-52
	Gamma-GT (U/L)	12	5-23
	<b>Fosfatasa Alcalina (U/L)</b>	<b>5610</b>	40-281
	Ferritina (ng/mL)	24	20-200
<b>Serología de enfermedad celíaca</b>	Ac. Anti Transglutaminasa A (U/mL)	0.30	0.0-10.0
<b>Inmunoglobulinas</b>	IgG (mg/dL)	913	330-1160
	IgM (mg/dL)	111	40-170
	IgA (mg/dL)	95	10-100
<b>Microbiología</b>	Coprocultivo	Negativo	-
	Parásitos en heces	Negativo (tres muestras negativas)	-

**Tabla 1.** Resultados de las pruebas de laboratorio solicitadas para el estudio del paciente. Elaboración propia.

Los resultados más destacados de estas pruebas de laboratorio quedan recogidos en la Tabla 1.

#### 4. DIAGNÓSTICO DEFINITIVO

Los resultados mostrados en la Tabla 1 descartan tanto infección bacteriana o parasitaria a nivel intestinal, así como la sospecha de celiaquía. Sin embargo, destaca principalmente la presencia de unos niveles de FA de 5610 U/L siendo, los valores de referencia de esta enzima, para la edad del paciente, de 40-281 U/L.

Tras la exploración física y la valoración de las pruebas de laboratorio, el paciente fue diagnosticado de diarrea crónica en el contexto de un síndrome postenteritis, por lo que se le

recomendó excluir la lactosa de la dieta hasta la próxima consulta así como añadir un probiótico.

Por otro lado, ante los elevados niveles de FA, sin alteración de otros parámetros que manifiesten algún trastorno hepático u óseo y tras la exploración del paciente sin hallar signos relacionados con dichos trastornos, el pediatra solicita realizar un control de seguimiento clínico y analítico.

Así, al cabo de 2 meses y medio, se remite una segunda muestra de sangre del paciente para el seguimiento de sus niveles de FA. Los resultados fueron similares para todos los parámetros medidos en la primera analítica excepto para los niveles de la FA, los cuales descendieron a 217 U/L.

La normalización de los valores de FA, junto con la ausencia de síntomas o hallazgos de enfermedades relacionadas con

situaciones patológicas en las que se observaría elevación de esta enzima, deriva en el diagnóstico al paciente de la hiperfosfatemia transitoria benigna de la infancia.

## 5. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Tal como se ha indicado en el primer apartado, la FA incluye a un grupo de isoenzimas cuyos niveles en sangre proceden principalmente de la enzima a nivel hepático y óseo. Es por ello que se trata de un biomarcador ampliamente utilizado en la práctica clínica habitual, para la detección de colestasis y de alteraciones óseas.

Así en un primer momento, y ante los elevadísimos niveles de FA en la analítica de control del paciente, las primeras acciones realizadas fueron orientadas a descartar patologías principalmente relacionadas con el hígado y el tejido óseo, realizando para ello una anamnesis y exploración física en busca de causas óseas como inflamación o raquitismo y de causas hepáticas como hepatomegalia.

Dentro de los signos clínicos de enfermedad ósea en niños destacan las deformidades esqueléticas, dolores óseos, un lento incremento de estatura o fracturas patológicas. Por otro lado, entre los síntomas de enfermedad hepática en pediatría destaca la ictericia, visceromegalia, presencia de bilirrubina en orina o coluria y ausencia de ésta en las heces o acolia.

A nivel clínico, el paciente únicamente presentaba los episodios de diarrea, resueltos tras excluir la lactosa de la dieta y la administración del probiótico, sin manifestar ningún signo de enfermedad hepática o cualquier otra alteración ósea.

A nivel analítico, los resultados refuerzan también la idea de que la elevación de la FA tiene mayor relación con un fenómeno fisiológico que con uno patológico: las transaminasas ALT y AST se encuentran ambas en rango normal. Lo mismo sucede con los parámetros de la Gamma-GT, las proteínas totales y la albúmina, pudiendo esta última verse disminuida en caso de trastorno hepático al ser una proteína producida en el hígado. Por otra parte, los niveles de calcio y de fósforo del paciente también se encontraban dentro de los intervalos de referencia para su edad.

## 6. EVOLUCIÓN

Tras establecer el diagnóstico de síndrome postenteritis, un mes después de la consulta y con la propuesta de excluir la lactosa de la dieta junto con la administración del probiótico, se consiguió la resolución de los episodios de diarrea en diciembre de 2021.

Así, el paciente volvió a realizar deposiciones diarias sin productos patológicos. Tampoco volvió a manifestar dolor, distensión abdominal, vómitos o algún otro signo de alarma, habiendo incluso aumentado ligeramente de peso desde la primera consulta.

Respecto a la hiperfosfatemia, y siguiendo los criterios diagnósticos de la HFTBI, se solicitó un control analítico para enero de 2022, habiendo transcurrido así dos meses y medio desde la primera analítica donde se detectaron los niveles excesivamente elevados de la FA.

En este segundo análisis, se obtuvieron unos niveles de esta

enzima de 217 U/L, es decir, que descendieron a niveles normales en un periodo menor a cuatro meses, con lo que ya no precisó de más seguimiento clínico ni analítico.

## 7. ACTUALIZACIÓN SOBRE EL TEMA

La prevalencia de la HFTBI es un dato complicado de estimar, puesto que en la mayoría de los casos corresponde a un hallazgo casual en los resultados de análisis de laboratorio solicitados por diversas causas.

En algunos estudios realizados para tratar de esclarecer este porcentaje, se observó que, en niños sanos con una edad entre los 6 meses y los 5 años, habían sido reportados tasas de marcada elevación de la FA en un porcentaje de entre el 2% y el 6%.

Existen varias hipótesis respecto al mecanismo por el que se produce esta elevación enzimática como son el aumento de su síntesis intracelular en el contexto de una situación de estrés (lo cual se ha comprobado en modelos experimentales) o la activación de la enzima circulante sin aumento real de la concentración.

Sin embargo, una de las teorías más plausibles que explica este incremento de FA consiste en la disminución del aclaramiento plasmático de la enzima, lo cual ha podido ser comprobado in vitro tras procesos infecciosos.

Aun así, en la actualidad la etiología exacta de la HFTBI continúa siendo una incógnita, si bien es cierto que se han descrito distintas entidades asociadas a este fenómeno, como las infecciones (33% de los casos), retraso ponderal (28%) o diarrea (15%).

Para concluir, el diagnóstico de este fenómeno se basa en los llamados criterios de Kraut, que fue el autor que los definió en 1985, y que continúan vigentes en la actualidad:

- Edad menor de cinco años.
- Sintomatología variable o incluso ausente.
- Ausencia de signos físicos y analíticos de alteraciones óseas y/o hepáticas, a excepción de la marcada elevación de las isoenzimas ósea o hepática de la FA.
- Normalización de los valores de la enzima en un plazo igual o inferior a cuatro meses.

## BIBLIOGRAFÍA GENERAL

- Huh SY, Feldman HA, Cox JE, Gordon CM. Prevalence of transient hyperphosphatasemia among healthy infants and toddlers. *Pediatrics*. 2009; 124(2): 703-709.
- Kraut JR, Metrick M, Maxwell NR, Kaplan M. Isoenzyme studies in transient hyperphosphatasemia of infancy. Ten new cases and a review of the literature. *Am J Dis Child*. 1985; 139(7): 736-740.
- Makris K, Mousa C, Cavalier E. Alkaline Phosphatases: Biochemistry, Functions, and Measurement. *Calcif Tissue Int*. 2023; 112(2): 233-242.
- Ridefelt P, Gustafsson J, Aldrimer M, Hellberg D. Alkaline phosphatase in healthy children: Reference

- intervals and prevalence of elevated levels. *Horm Res Paediatr.* 2014; 82(6): 399-404.
- Schonhaut B. L, et al. Hiperfosfatasemia transitoria benigna de la infancia, Serie Clinica. *Rev Chil Pediatr.* 2016.
  - Ortega Páez E, et al. Hiperfosfatasemia transitoria benigna de la infancia. *Form Act Pediatr Aten Prim.* 2012; 5: 91-95.

