

2. Actualización del diagnóstico diferencial de anemias

UPDATE OF THE DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF ANEMIAS

Samuel Delgado Macías

Graduado en Farmacia por la Universidad de Sevilla.

Jorge Montenegro Martínez

Licenciado en Biología por la Universidad de Sevilla.

Sergio Pérez Pujalte

Graduado en Bioquímica por la universidad de Murcia.

RESUMEN

La anemia se considera la causa más común de consulta médica y la enfermedad hematológica de mayor prevalencia en la población mundial. Por ello es importante realizar un primer diagnóstico diferencial en el paciente con anemia, para facilitar el abordaje de la patología.

Se define como el descenso en la masa eritrocitaria y/o de concentración hemoglobina. Tiene una etiología muy variada y para su diagnóstico es necesario la combinación de varias pruebas hematológicas, una buena anamnesis y en algunos casos estudios genéticos a nivel familiar. Una prueba fundamental para detectar los primeros indicios de anemia es el hemograma, incluido en las analíticas de rutina que se realizan de forma general en las revisiones médicas. Otro punto importante para su detección temprana es la aparición de síntomas, debido a los mecanismos compensatorios del cuerpo ante la hipoxia tisular. Una vez detectada se procede a un estudio más exhaustivo y diferencial, para determinar la causa.

Debido a la importancia de esta enfermedad a nivel global, es esencial la estandarización de valores críticos diferenciados por edad, raza y sexo. Actualización y automatización de las técnicas utilizadas para proporcionar un diagnóstico rápido y facilitar la instauración de un tratamiento o procedimiento con el objetivo de mejorar la vida de los pacientes que la padecen.

Palabras clave: Anemia, diagnóstico, fisiología eritrocitaria, hemoglobina.

ABSTRACT

Anemia is considered the most common cause of medical consultation and hematological disease of higher prevalence in

the world population. It is therefore important to make a first differential diagnosis in the patient with anemia, to facilitate the approach of the pathology.

It is defined as the decrease in erythrocyte mass and/or hemoglobin concentration. It has a very varied etiology and for its diagnosis it is necessary the combination of several hematological tests, a good anamnesis and in some cases genetic studies at the family level. A key test to detect the first signs of anemia is the blood count, included in routine tests that are generally performed at medical checkups. Another important point for its early detection is the appearance of symptoms, due to the compensatory mechanisms of the body before tissue hypoxia. Once detected, a more comprehensive and differential study is carried out to determine the cause.

Due to the importance of this disease globally, the standardization of critical values differentiated by age, race and sex is essential. Updating and automation of the techniques used to provide a rapid diagnosis and facilitate the establishment of a treatment or procedure with the aim of improving the life of patients suffering from it.

Keywords: Anemia, diagnosis, erythrocyte physiology, hemoglobin.

FISIOLOGÍA ERITROCITARIA

Hematopoyesis

La hematopoyesis es el proceso de formación de las distintas células sanguíneas: glóbulos rojos, leucocitos y plaquetas. La síntesis de estas células tiene un origen común en las células madre hematopoyéticas o *stem cells*, con capacidad de diferenciarse a las distintas líneas celulares presentes en la sangre. Este proceso, en las primeras etapas fetales, se produce en el saco vitelino, el hígado y el bazo. Cuando acaba esta etapa, pasan a ser producidas principalmente por la médula ósea.

La médula ósea es un tejido esponjoso que en neonatos está presente prácticamente en todos los huesos y en la edad adulta se localiza, principalmente, en la pelvis, las vértebras, costillas, esternón, sacro y parte proximal del fémur.

Existen dos tipos de médula ósea, la roja y la amarilla. La zona roja es la parte donde se producen las células precursoras de ambas líneas celulares, la línea mielóide y la linfóide, procedentes de una célula madre multipotente común. En una muestra, cuando se visualiza esta parte, se pueden observar tanto a las células progenitoras como a sus derivados en las distintas fases de su desarrollo. Desde la etapa fetal hasta los 5 años de vida la médula roja es predominante en todos los huesos, pero a medida que aumenta la edad y la demanda cambia, comienza a aparecer una zona donde se encuentran las precursoras de forma inactivada y una mayor cantidad de adipocitos. Esta zona nueva que cada vez aumenta más su extensión en los huesos se denomina la médula amarilla y su función principal es de reserva energética y almacén de nutrientes.

tes. Es una parte fundamental para el microambiente o nicho medular (1).

Este proceso de hematopoyesis es continuo, la vida de las células sanguíneas es limitada y necesitan una reposición sin interrupción para asegurar el equilibrio entre la demanda, la destrucción y las que se forman *de novo*. Los eritrocitos tienen una media de 120 días, siendo las más longevas, pero las plaquetas sólo tienen poco más de una semana y la mayoría de leucocitos de 24-48h, exceptuando linfocitos que pueden sobrevivir meses o años.

La diferenciación de las distintas líneas celulares está condicionada por el microambiente donde se dan una serie de reacciones y señales citoquímicas que producen la maduración y expansión siguiendo una línea concreta. Los progenitores linfoides darán lugar a los distintos tipos de linfocitos y células dendríticas que acabarán migrando al tejido linfático, mientras que el mieloide producirá la serie granulocítica, eritroide y megacariocítica que pasarán a sangre periférica. Este proceso se define por dos fases: la fase de proliferación y diferenciación, y la fase de proliferación y maduración (2).

Fase de proliferación y diferenciación

La célula multipotente o pluripotente se caracteriza por expresar el antígeno CD34+ en su membrana y por su capacidad de autorrenovación y producción de colonias cuando se cultiva "in vitro". Es el origen de todas las células hematológicas y se define como la unidad formadora de colonias linfoides y mieloides (UFC-LM).

Posteriormente, tras la interacción con determinados factores estimulantes de colonias, de crecimiento e interleucinas que favorecen la expresión génica hacia una línea en concreto, se determina a qué tipo de progenitor se diferencia: 1) Células progenitoras de unidades formadoras de colonias

granulocíticas, eritroides, monocíticas y megacariocíticas (UFC-GEMM); 2) Células progenitoras de unidades formadoras de colonias linfoides (UFC-L).

Una vez se define la línea a celular a seguir, se subdividen en diferentes células progenitoras comprometidas en su diferenciación: Unidad formadora de brotes eritroide (UFB-E), granulomonocítica (UFB-GM) y megacariocítica (UFC-Meg). En el caso de la línea linfóide se pasan directamente a la fase de proliferación y maduración, donde aparecen las células Pro-B y Pro-T, tanto en la médula como en el timo.

Fase de proliferación y maduración

En esta fase ya se aprecian las diferencias morfológicas entre unas células y otras, tanto en tamaño y contenido, como en receptores que expresan en su membrana.

La diferenciación dependerá de los factores, hormonas y elementos presentes en el nicho medular (Tabla 1). Los *factores estimuladores* se encargan de inducir la proliferación de una línea en concreto o de manera inespecífica. Los *potenciadores*, que normalmente son las citoquinas, tienen efecto sinérgico positivo con los estimuladores, aumentando o favoreciendo su efecto. Los *inhibidores*, en cambio, impiden el proceso o lo enlentecen.

Cabe destacar, que a medida que van madurando las distintas células, va desapareciendo el nucléolo, el núcleo va disminuyendo su tamaño y en algunos casos desaparece por completo como ocurre en los eritrocitos. Como consecuencia, el espacio citoplasmático va aumentando. El resultado de estas transformaciones en la célula es la pérdida en su capacidad de división, pero una vez maduras ya son funcionales. Estas células en sus últimas etapas de maduración están presentes en la médula y en su lugar de actuación, la sangre periférica o el timo como ocurre con los linfocitos. Por lo que en un frotis de sangre se po-

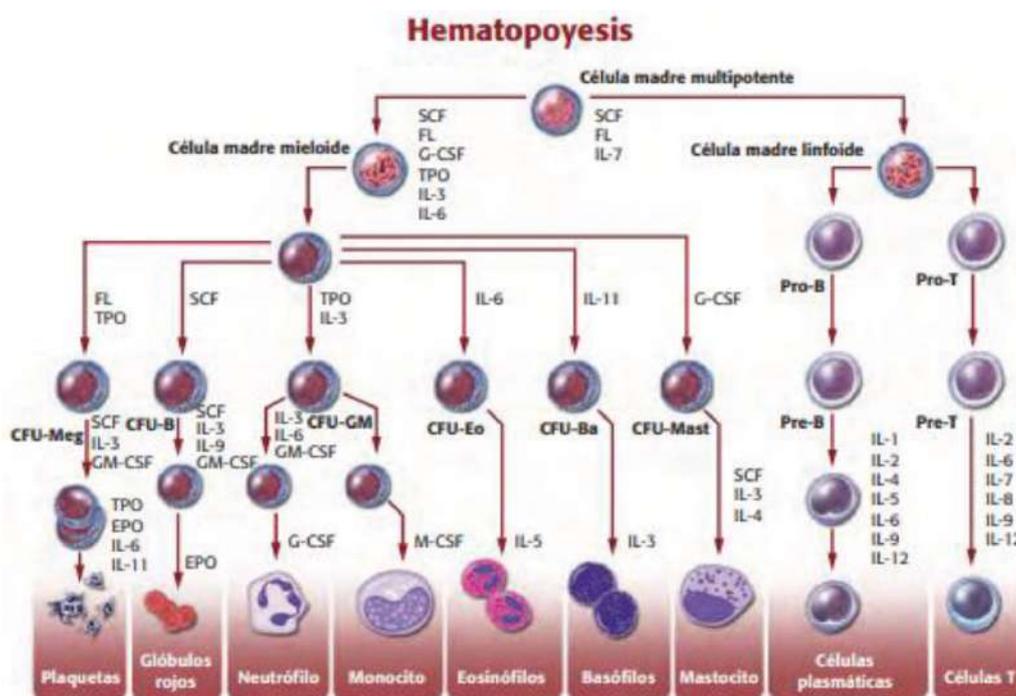


Figura 1. Esquema hematopoyesis (3).

Tabla 1. Factores que intervienen en la hematopoyesis (Elaboración propia).

Factores estimuladores	Factores inhibidores
<p><i>Fase de proliferación y diferenciación:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Ligando c-kit • Interleucina 3, 6, 11 y 12 • Interleucina 7 en linaje linfoide • Factores de crecimiento para estimulación de colonias en linaje mieloide (FSC-GM) <p><i>Fase de maduración:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Trombopoyetina: Megacariocitos • Eritropoyetina: Línea eritroide • Mastocitos y basófilos: Interleucina 4 • Eosinófilos: IL-5 • Neutrófilos: G-CSF • Monocitos: M-CSF 	<ul style="list-style-type: none"> • Interferón alfa, beta y gamma • TNF: Factor de necrosis tumoral alfa y beta. • PIM: Proteína inflamatoria de macrófago. • Lactoferrina • Transferrina • Prostaglandina E-1 y E-2

drán observar estos elementos formes en sus distintas fases de maduración, aunque en pacientes sanos predominarán las células maduras. Algunas de ellas, como los mastocitos, macrófagos, plasmocitos y células dendríticas, migran a sus tejidos correspondientes (4).

Eritropoyesis

Una vez se produce la diferenciación a la línea eritroide con la aparición de UFB-E, pasa a ser el precursor de hematíes como Unidad formadora de colonias eritroides (UFC-E) y se inicia la fase de proliferación y maduración.

La eritropoyesis completa dura aproximadamente 7-8 días. Gran parte del tiempo del proceso es en la médula ósea y cuando se encuentra en su última fase de maduración en sangre periférica. Hay situaciones en las que la formación de hematíes dura menos tiempo, por ejemplo, cuando aumenta la demanda por lo que se pueden observar mayor número de células inmaduras en sangre periférica. A medida que transcurren las etapas de esta fase de proliferación y maduración hasta obtener el eritrocito funcional, destaca la disminución paulatina del tamaño de la célula, pérdida de la basofilia citoplasmática, aumento de la hemoglobina intracelular y la condensación de la cromatina nuclear. En la última etapa, el núcleo sale por extrusión (5).

Proeritroblasto

Esta célula aparece por diferenciación de la UFC-E y ya se puede identificar al microscopio como célula de la línea eritrocítica. Tiene un tamaño grande de 20-25 µm, forma redonda y a veces ovalada Destaca su citoplasma altamente basófilo y un núcleo grande redondeado con cromatina laxa.

Eritroblasto basófilo

Resultado de la división y maduración del proeritroblasto. En esta etapa observamos una célula más pequeña de 16-18 µm, con una cromatina nuclear más condensada adquiriendo una forma radial, pero sigue manteniendo un citoplasma basófilo. En esta etapa comienza la síntesis de hemoglobina.

Eritroblasto policromático

Tras la maduración y división del eritroblasto basófilo aparece este eritroblasto que será el primero en perder la ca-

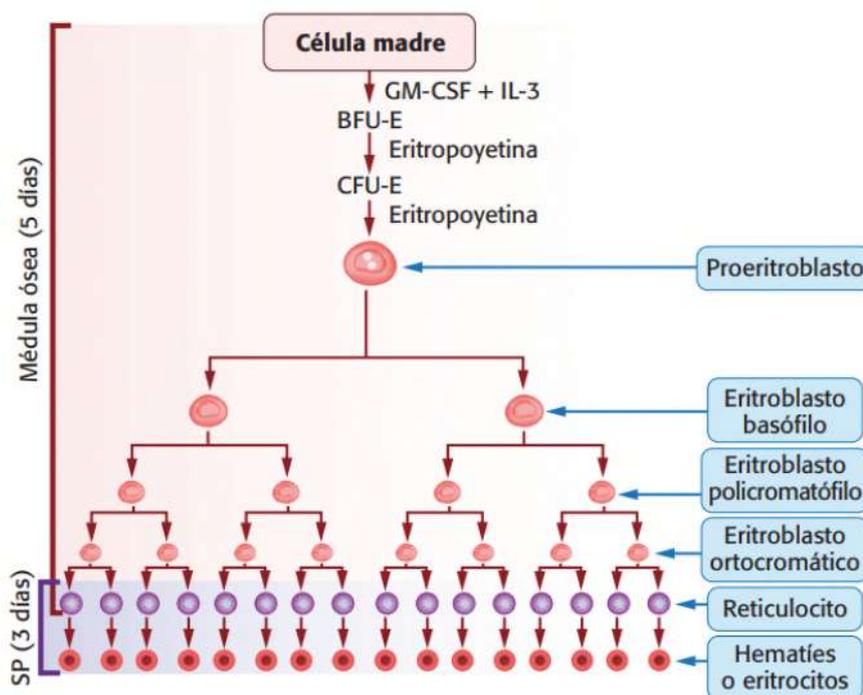


Figura 2. Esquema eritropoyesis (3).

pacidad de división celular. Su tamaño es de 8-12 μm , forma y núcleo redondeado, presenta una cromatina madura y condensada. Contiene grandes cantidades de hemoglobina.

Eritroblasto ortocromático

El eritroblasto ortocromático aparece tras la maduración del policromático. Tiene un tamaño muy parecido a la fase madura, 7-10 μm de diámetro y presenta un núcleo redondeado con cromatina muy condensada de color oscuro (picnosis). Será la última célula en el proceso de eritropoyesis en presentar núcleo. Gracias a la tinción de Perls se pueden identificar cúmulos de hemosiderina en algunos eritroblastos que pasarán a llamarse sideroblastos. Se encuentran en médula ósea y en pocas ocasiones en sangre periférica.

Reticulocito

En la maduración hacia reticulocito se pierde el núcleo por extrusión. Tiene el tamaño de eritrocito maduro 8 μm , presenta un citoplasma ligeramente basófilo y conserva la capacidad de síntesis de hemoglobina. Tras 2-4 días de maduración en la médula, pasa a sangre periférica por diapédesis y está en circulación 1-2 días. En condiciones normales su presencia debe ser cerca del 1% de los eritrocitos totales, pero en situaciones patológicas puede aumentar.

Eritrocito

El eritrocito ya maduro tiene una semivida de 120 días en sangre periférica. Carece de núcleo, capacidad de síntesis de hemoglobina y de división. Tiene un tamaño de 7-8 μm y forma bicóncava (6).

Factores necesarios en la eritropoyesis

Factores de regulación endógena

- **Eritropoyetina:** Glucoproteína de síntesis renal principalmente, que aumenta ante situaciones de hipoxia tisular. Como funciones principales estimular la síntesis de eritrocitos a nivel medular y acelerar la maduración de los diferentes eritroblastos.

Factores de regulación exógena

- **Hierro:** Fundamental para síntesis de hemoglobina, mioglobina y enzimas como citocromo o catalasas entre otras.
- **Vitamina B₁₂:** La cianocobalamina es esencial para la maduración de eritroblastos ya que se encarga de la regeneración del ácido fólico, implicado en la síntesis de ADN de estas células.
- **Folatos:** Esencial para la síntesis de ADN en la etapa de maduración final a eritrocito.
- **Vitamina B₆:** Su función como cofactor en la producción de ácido aminolevulínico (ALA) en la síntesis del grupo hemo es fundamental (7).

Eritrocatéresis

En condiciones normales, la destrucción de los eritrocitos se produce principalmente en el espacio extravascular. Una vez el eritrocito ha estado circulando cerca de 120 días, las células del sistema mononuclear fagocítico las captan y trasladan al bazo, hígado o médula para proceder a su degradación. Hay productos de la destrucción que serán reciclados para volverlos a utilizar en la síntesis de nuevos eritrocitos. Es el caso del hierro, gracias a la transferrina que lo transporta hasta la médula o almacena en forma de ferritina. La globina también se reutiliza. En cambio, La protoporfirina derivada de la degradación del grupo hemo, pasará por el hígado para convertirse en bilirrubina.

En situaciones patológicas, la hemólisis que se produce es intravascular y como consecuencia se libera el contenido citoplasmático del hematíe en sangre. Se pueden encontrar concentraciones de enzimas intraeritrocitarias como lactato deshidrogenasa, aumentadas en el torrente sanguíneo (8).

Eritrocito: definición

El eritrocito es la célula más importante y abundante de la sangre. Tiene un tamaño entre 7-8 μm y forma de disco bicóncavo. Tiene 3 componentes principales: Membrana, hemoglobina y enzimas. Se caracteriza por tener un color rojizo debido a la hemoglobina que contiene. Carece de núcleo y orgánulos en su citoplasma, como consecuencia no puede dividirse ni sintetizar proteínas.

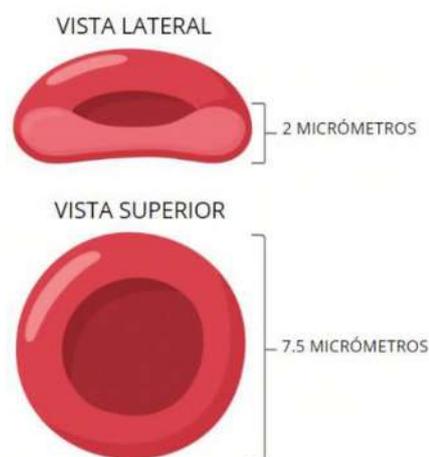


Figura 3. Eritrocito (8).

Su función principal es el transporte de oxígeno que capta la hemoglobina al pasar por los pulmones hacia los tejidos, formando el complejo oxihemoglobina. Una vez cede el oxígeno, lo intercambia por dióxido de carbono que se transforma en bicarbonato gracias a la anhidrasa carbónica o forma complejo con la hemoglobina como carbaminohemoglobina, transportando el CO₂ de vuelta a los pulmones para su eliminación.

La actividad metabólica del hematíe es reducida debido a la ausencia de mitocondrias en su interior. Pero destaca

el metabolismo para la transformación de glucosa a glucosa-6-fosfato, que le permite obtener energía y poder reductor mediante dos vías metabólicas:

- El 90% del metabolismo de la glucosa en el eritrocito se realiza a través de la vía glucolítica
- El 10% restante mediante la oxidación de la vía de las pentosas fosfato.

La enzima principal que se encuentra en el citoplasma de los glóbulos rojos es lactato deshidrogenasa (LDH).

Parámetros hematológicos en laboratorio

La sangre se compone de una fracción líquida denominada plasma que ocupa el 55% de su volumen total, y una fracción forme compuesta por eritrocitos, plaquetas y leucocitos que ocupan el 45% restante.

El plasma es un líquido transparente con tonalidad amarilla compuesta esencialmente por agua, pero también de sustancias relevantes como: Proteínas, lípidos, glúcidos, vitaminas, hormonas, enzimas, entre las que destacan moléculas fundamentales para la hemostasia como la fibrina, fibrinógeno y factores de coagulación. Cuando se elimina el fibrinógeno en plasma, pasa a ser suero.

Las células predominantes en la sangre son los glóbulos rojos, puesto que son el 99% de las células presentes en este líquido biológico, le siguen las plaquetas y los leucocitos. La gran presencia de eritrocitos determina su función principal, la respiratoria, con el transporte de oxígeno a los diferentes tejidos por las arterias y trasladar el dióxido de carbono a los pulmones, para que se produzca el intercambio gaseoso. También se encarga de la función defensiva, regulación hormonal, equilibrio ácido-base, el transporte de nutrientes, enzimas y metabolitos de desecho entre otros.

Las muestras que se suelen utilizar para los distintos estudios hematológicos que se realizan en el laboratorio proceden de punciones en capilares dactilares o de extracciones de sangre en venas braquiocefálicas, que se recogen en los tubos con EDTA (ácido etileno-diamina-tetra-acético). El EDTA ejerce un efecto quelante sobre el calcio evitando que se desencadene la cascada de coagulación, favoreciendo la conservación e integridad de la muestra para su posterior estudio.

Los métodos para determinar estos parámetros han avanzado bastante a nivel de laboratorio debido a la automatización, ayudando a que los tiempos de análisis se acorten y aumenten la cantidad de muestras que se analizan a la vez. Los autoanalizadores más modernos junto a los diferentes software informáticos que utilizan, son capaces de detectar anomalías o alteraciones en estos parámetros, comunicarlos y ampliar el estudio de ese perfil cuando los valores están fuera de los rangos determinados utilizando una serie de algoritmos establecidos.

Hemograma

El hemograma es un estudio básico en hematología presente en las analíticas de rutina, por ello es el más común en el

laboratorio. Tiene como objetivo cuantificar los parámetros más relevantes de las células presentes en sangre periférica, los eritrocitos, las plaquetas y los leucocitos. Los valores son absolutos o en porcentajes. Con los resultados del hemograma se pueden detectar alteraciones que necesiten un estudio más exhaustivo, como ocurre cuando los valores de hematíes o de hemoglobina son bajos y se sospecha de una anemia. Este estudio está muy estandarizado en el laboratorio, por lo que en ciertos hospitales la validación de hemogramas cuyos valores estén dentro del rango establecido, es automática (8).

Los rangos de referencia para los valores del hemograma los debe establecer el laboratorio, teniendo en cuenta las características como el sexo y la edad de su población normal. En la siguiente tabla se encuentran los valores de referencia, aproximados, de un hemograma en adultos (Tabla 2):

Tabla 2. Valores de referencia en el hemograma (Elaboración propia).

Hematíes	Hombre: $4 - 6 \times 10^{12}$ células/L Mujer: $3,9 - 5 \times 10^{12}$ células/L
Hematocrito (HCT)	Hombre: 43 - 50% Mujer: 35 - 43%
Hemoglobina	Hombre: 13 - 17 g/dl Mujer: 12 - 16 g/dl
Glóbulos blancos	$3,4 - 9,6 \times 10^{12}$ células/L
Plaquetas	Hombre: $1,35 - 3,2 \times 10^{12}$ células/L Mujer: $1,57 - 3,7 \times 10^{12}$ células/L

Índices eritrocitarios

Hematocrito (HCT)

Proporción, medida en porcentaje, de la cantidad de hematíes en el volumen de sangre total. Cuando está por debajo de sus valores de referencia se considera anemia y cuando es superior hay poliglobulia.

$$HCT = \frac{VCM \times n^{\circ} \text{ de hematíes}}{10}$$

Volumen corpuscular medio (VCM)

El volumen promedio que ocupan los eritrocitos en sangre. Los valores normales son de 80-100 fL. Permite la clasificación, por tamaño, de las anemias:

- Microcíticas (< 80 fL) como ocurre en anemias ferropénicas o talasemia.
- Normocíticas (80-100 fL)
- Macroscíticas (≥ 100 fL), por ejemplo, en el déficit de vitamina B₁₂.

$$VCM = \frac{HCT (\%)}{n^{\circ} \text{ de hematíes}} \times 10$$

Hemoglobina corpuscular media (HCM)

Determina la cantidad promedio de hemoglobina en cada eritrocito. Los valores normales están entre 28 y 32 picogramos.

$$HCM = \frac{\text{Hemoglobina} \left(\frac{g}{dL} \right)}{\text{n}^\circ \text{ de hematíes}} \times 10$$

Concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM)

Informa de la concentración de hemoglobina en 100mL de glóbulos rojos. Los valores normales son 32-36%.

Este parámetro da información para la clasificación de las anemias según la coloración:

- Hipocrómicas: Coloración pobre de los eritrocitos
- Normocrómicas: Coloración normal.
- Hiperocrómicas: Hay un exceso de coloración roja en el eritrocito.

$$CHCM = \frac{\text{Hemoglobina} \left(\frac{g}{100mL} \right)}{HCM (\%)} \times 10$$

Amplitud de distribución eritrocitaria (ADE)

Proporciona información sobre la homogeneidad en el tamaño de los eritrocitos. Parámetro importante en anemias para clasificarla como anisocítica, cuando se encuentran eritrocitos de diferente tamaño, o isocíticas si coinciden en tener un tamaño similar. Su valor de referencia debe ser $\leq 15\%$, si es superior se considera anisocitosis (9).

$$ADE = \frac{\sigma VCM}{VCM} \times 100$$

Índices reticulocitarios

Recuento reticulocitario

Un parámetro útil para valorar la síntesis de eritrocitos por parte de la médula. Su valor normal está comprendido entre 25 y 85 $\times 10^3$ cél/L. Con este recuento se clasifican las anemias en regenerativas o arregenerativas.

El frotis de sangre para realizar este recuento se tiñe con azul de metileno. Hay disponibilidad de contadores automatizados con mayor precisión para este estudio.

Reticulocitos corregidos con el hematocrito

Para evitar problemas de recuento que puedan sobrestimar los valores de reticulocitos. Por ejemplo, en casos de anemia puede aumentar y se debe establecer una diferencia entre las siguientes situaciones:

- Puede haber una sobreproducción de reticulocitos para compensar la destrucción de hematíes.
- Puede haber hemólisis que no se compensa adecuadamente, pero cuando se observa hay mayor proporción de reticulocitos en comparación (10).

$$\% RC = \text{Reticulocitos observados} \times \frac{HCT \text{ paciente}}{HCT \text{ normal}}$$

Parámetros de ferrocinética

Sideremia o hierro plasmático

Cantidad de hierro sérico, los valores normales se encuentran dentro del rango 50-170 $\mu\text{g/dL}$. Se utiliza en el diagnóstico de anemias, aunque no de manera aislada. Disminuye en casos de anemia ferropénica y aumenta en enfermedades que afectan al metabolismo del hierro como la hemocromatosis.

La técnica empleada para su análisis es la espectrofotometría. La muestra de suero se pone en medio ácido, donde el hierro procede a disociarse del complejo que forma con la transferrina. El hierro libre en el medio ácido pasa a ión ferroso, que posteriormente se unirá con la sustancia cromogénica que se utilice y dará una señal proporcional a la cantidad de hierro presente en la muestra.

El resultado de la sideremia se estudia junta los parámetros relacionados con la transferrina como la capacidad total de fijación de hierro y el índice de saturación de esta glicoproteína. La relación de estos 3 valores es esencial para estudiar el tipo de ferropenia que tiene un paciente, estableciendo la diferencia entre la ferropenia producida por falta de absorción en la dieta y la pseudoferropenia que se produce por bloqueo en la disponibilidad del hierro almacenado.

Ferritina sérica

La ferritina es una molécula hidrosoluble que se une a la proteína apoferritina. Esta proteína es una de las formas más importantes de almacenamiento en el organismo, localizadas principalmente en el hígado, el bazo y la médula ósea. Puede encontrarse dentro o fuera de la célula guardando un equilibrio entre ambos compartimentos. En situaciones que aumentan la demanda de hierro, baja a nivel intracelular y aumenta en el espacio extracelular. La ferritina tiene la ventaja de poder detectarse en suero, a diferencia de la hemosiderina, y poder relacionarse directamente con la cantidad total de hierro almacenado en el cuerpo, para detectar casos de déficit o exceso.

Los métodos para cuantificar sus niveles en suero son inmunológicos, inmunoensayos con enzimas o radioinmunoensayos.

Proporciona información sobre los depósitos de hierro en general, aunque hay que tener en cuenta posibles interferencias analíticas. Su valor puede estar falsamente elevado, al ser una reactante de fase aguda, en infecciones o estados inflamatorios.

Su valor de referencia está entre 20-300 ng/mL en hombres y de 15-120 ng/mL en mujeres.

Transferrina

Es una glicoproteína de síntesis hepática que se encarga del transporte de hierro obtenido de la dieta, tras su ab-

sorción intestinal, y de hierro reciclado tras la destrucción de los eritrocitos maduros. Cada transferrina es capaz de transportar 2 átomos de hierro (Fe³⁺). Su destino principal es la médula ósea, pero también transporta hierro para la síntesis de enzimas. Cuando no está formando el complejo con los iones de hierro se denomina apotransferrina. En situaciones de sobrecarga cuando esta proteína está totalmente ocupada, pasa a ser transferrina saturada.

Su valor de referencia está entre 250-360 mg/dL.

Su estudio es relevante para las anemias microcíticas. En anemias ferropénicas su valor es alto ya que intenta captar todo el hierro liberado de los depósitos para promover la eritropoyesis y síntesis de grupo hemo. Es bajo en talasemias y anemias por enfermedad crónica, puesto que existe un bloqueo de los depósitos de hierro que baja su disponibilidad a nivel sérico.

Índice de saturación de transferrina (IST)

Este índice mide el porcentaje de ocupación de hierro en la transferrina.

En anemias ferropénicas el porcentaje de saturación es bajo, a diferencia de situaciones de exceso de hierro en suero como sucede en anemias hemolíticas.

$$\%IST = \frac{\text{Sideremia}}{\text{Capacidad total de fijación de hierro}} \times 100$$

Su valor de referencia está entre 20 y 45%.

Capacidad total de fijación del hierro (CTFH)

Mide la capacidad de captación de hierro de la transferrina. En condiciones normales, un tercio de los sitios de unión de hierro de la transferrina están ocupados por iones férricos. Cerca de la totalidad del hierro presente en el plasma está unido a la transferrina, por ello existe una correlación directa entre la cantidad de hierro en suero y esta glicoproteína. Para medir esta capacidad de fijación, se intenta saturar esta proteína al completo.

El método para medir la cantidad de hierro se basa en saturar la muestra de suero, eliminar el exceso y someterlo a un método colorimétrico para calcular la sideremia.

Su valor de referencia está entre 240-400 ng/mL.

Estos valores aumentan cuando hay déficit de hierro como en la anemia ferropénica, y son bajos cuando hay exceso de hierro en suero como en la hemocromatosis.

Receptor soluble de transferrina en suero

Estos receptores de transferrina transmembrana se encuentran en la mayoría de las células, principalmente en los eritroblastos y reticulocitos. En estas células cuando la transferrina saturada se une al receptor, se internaliza y cede los iones de hierro con el objetivo de proporcionar suministro suficiente para la síntesis de grupo hemo. Finalmente, la transferrina no saturada vuelve a ser liberada al plasma.

Ante un déficit de hierro, los eritroblastos sintetizan mayor número de receptores de este transportador para poder captar todo el hierro disponible en plasma (11).

Pruebas de laboratorio

Para cualquier estudio de muestras hematológicas en el laboratorio, con el fin de asegurar una buena calidad de los resultados, es importante el control de las distintas fases por las que pasará la muestra. La información proporcionada a lo largo de este proceso será relevante a la hora de informar sobre un posible diagnóstico.

En la fase preanalítica será importante el informe médico que explique el motivo de petición de análisis, cómo se obtiene la muestra y las condiciones en las que se transporta.

En la fase analítica se tendrán en cuenta las técnicas utilizadas para obtener la información solicitada; adecuar los resultados a las características del paciente, por ejemplo, ajustar los rangos de los valores de referencia al sexo, la edad y raza;

Por último, en la fase posanalítica, informar del resultado y si es necesario la realización de pruebas complementarias para el diagnóstico completo.

Frotis sanguíneo

Esta técnica es esencial para el estudio morfológico de las células sanguíneas, está recomendada cuando los autoanalizadores detectan alguna alteración o ante la sospecha de una patología en concreto, proporcionando un diagnóstico diferencial.

En el frotis se debe colocar una gota de sangre sobre el portaobjetos y proceder a su extensión con la ayuda de otro portaobjetos. 1) Depositar una gota de sangre sobre el portaobjetos, con la ayuda de un tubo tipo capilar. 2) Colocar el extremo del porta extensor a la izquierda de la gota y acercarlo la muestra de sangre con una inclinación de 45°. Dejar que se extienda la sangre por el borde. 3) Deslizar el portaobjetos hacia la izquierda y extender la gota. Finalmente se deja secar para su posterior tinción. Debe ocupar el 75% del portaobjetos donde se realice.

Al preparar una extensión sanguínea, se aprecian 3 zonas:

- *Cabeza:* Es la zona inicial, donde la gota es más gruesa. En esta parte predomina la presencia de linfocitos y eritrocitos en forma de rouleux.
- *Cuerpo:* Parte intermedia donde la extensión es bastante uniforme y adecuada para observar correctamente las células.
- *Cola:* Final de la extensión donde suelen predominar las células más grandes o células rotas por efecto mecánico al extender la muestra.

La preparación debe ser uniforme, una extensión densa puede dar lugar a errores de análisis por aglomeración o apilamiento de las distintas células sanguíneas y en caso

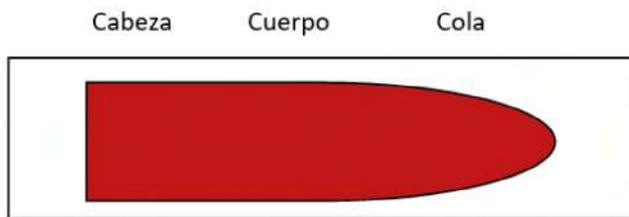


Figura 4. Partes de un frotis sanguíneo (Elaboración propia).

de ser muy fina, dificulta el conteo y visualización correcta de estos elementos.

Actualmente hay dispositivos automatizados que realizan una preparación completa de extensión-tinción, facilitando un mayor número de frotis sanguíneos con distribución homogénea en menos tiempo.

Tinciones

Una vez preparada la muestra, las tinciones más utilizadas para el estudio de estos elementos son las siguientes:

May Grünwald-Giemsa

Es una técnica de tinción tipo Romanowsky utilizada en hematología para observar y diferenciar los distintos tipos de células sanguíneas en una muestra de sangre periférica. Se utiliza para la identificación y clasificación de estas células, para poder estudiar alteraciones en forma, tamaño, cantidad y detectar posibles inclusiones en su interior.

Es una combinación de 3 tintes diferentes: Un colorante ácido, el azul de metileno; un colorante básico, eosina; un colorante selectivo de la cromatina que es azul II. Con esta técnica, los glóbulos rojos se tiñen con un tono rosado, los blancos se tiñen de azul y los demás elementos del citoplasma en rosa, violeta y azul, consiguiendo la coloración de todos los elementos. Los pasos, de la técnica a seguir, son:

- Preparación de la muestra: Se prepara una extensión fina de la muestra en una lámina portaobjetos. En este caso una muestra de sangre periférica o médula ósea.
- Fijación de la muestra: Se deja secar.
- Tinción de May Grünwald: Se sumerge o cubre la lámina por completo con eosina durante un mínimo de 5 minutos.
- Dilución/Lavado: Con agua destilada unos 3mL, ayuda a la disociación de los dos tintes que componen la tinción anterior, dejar actuar 5 minutos. Se inclina y lava suavemente con agua destilada.
- Tinción Giemsa: Se impregna la lámina con 3 gotas la solución de Giemsa diluido al 10% y se deja unos 10 minutos.
- Lavado con agua y secado.

Posteriormente se prepara el portaobjetos con aceite de inmersión y el objetivo X10 para evaluar la calidad del frotis y realizar un visionado general para detectar aglomeraciones, fragmentos o distribuciones anómalas que puedan

estar causadas por una mala preparación de la muestra a analizar. Finalmente, para realizar un estudio morfológico de las células sanguíneas, se cambia al objetivo X100 del microscopio.

Su uso es fundamental en el diagnóstico y seguimiento de trastornos sanguíneos. También se utiliza para detección de parásitos en sangre.

Tinción de Wright

Es una técnica rápida y fácil de realizar, ampliamente utilizada en hematología para la identificación y clasificación de células sanguíneas. Es una combinación de dos tintes diferentes, eosina y azul de metileno.

Los glóbulos rojos se tiñen de rosa, los núcleos de los glóbulos blancos azul y los núcleos y diferentes citoplasmas de rosa, violeta o azul.

- Preparación de la extensión de sangre y dejar secar la muestra al aire.
- Fijación de la muestra: se aplica metanol para fijar las células a la muestra, sin que se desprendan del portaobjetos durante la tinción.
- Tinción con eosina: La lámina portaobjetos con la muestra, se sumerge en eosina acuosa durante 1-2 minutos.
- Tinción con azul de metileno: sumergir la lámina en azul de metileno acuoso durante 5-10 minutos
- Lavado: Se lava la lámina con agua destilada para retirar el exceso de tinte.
- Secado: Se seca a temperatura ambiente.

El último paso es la observación microscópica: La muestra tintada se observa al microscopio con la lente de inmersión de aceite para observar la muestra con mayor resolución, tal y como se especifica en la técnica de tinción anterior (12).

Tinción de Perls

Es la reacción con azul de Prusia que se utiliza para detectar y estudiar los depósitos de hierro o hemosiderina en las células presentes en la biopsia de médula ósea.

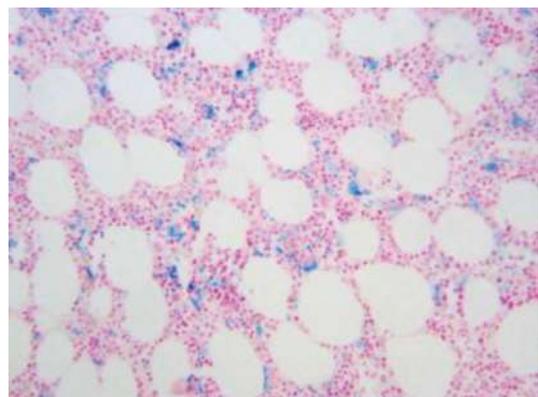


Figura 5. Muestra hematológica con tinción de Perls (14).

Los eritroblastos pueden presentar hasta 4 gránulos de hemosiderina en su citoplasma, con esta tinción adquieren una tonalidad azul-verdosa y se denominan sideroblasto. En casos de anemia hay situaciones en las que el estudio de estos depósitos es esencial para el diagnóstico diferencial. Los depósitos de hierro en macrófagos también se pueden teñir (13).

Técnicas de recuento de hematíes

Estas técnicas tienen el objetivo de cuantificar la cantidad de eritrocitos presentes en un volumen determinado.

Recuento manual por microscopía: La técnica más tradicional es el recuento de hematíes en la cámara de Neubauer o hemacitómetro. Se utiliza para el recuento de hematíes maduros e inmaduros presentes en una muestra de sangre.

1. La muestra se extrae por una punción en el dedo o venosa en un tubo con anticoagulante tipo EDTA. Se diluye con una solución de citrato sódico al 3% o una solución salina fisiológica, hasta obtener una dilución homogénea.
2. Carga de la cámara de Neubauer: se recoge con la Pipeta Thoma la muestra diluida y se coloca una gota en el centro de la cuadrícula (importante no llenar mucho la cámara, ya que las células pueden sobreponearse y dificultar el proceso).
3. Se utiliza un microscopio, con aumento de 40X para contar. La cámara tiene 9 retículos, cada uno se divide en 16 cuadrados y después en otros 16 cuadrados cada uno. Para los hematíes se tienen en cuenta dos cosas: se cuentan el cuadrado de en medio y las 4 esquinas, segundo, se realiza una visual en zigzag.

Contadores automáticos: Los contadores automáticos de eritrocitos son dispositivos utilizados en el laboratorio para cuantificar y clasificar células sanguíneas de manera rápida y precisa. Estos dispositivos funcionan mediante la utilización de tecnología óptica y electrónica para analizar las características de las células sanguíneas.

Existen varios tipos de contadores automáticos de eritrocitos, dentro de los más comunes se encuentran (15):

- *Coulter-Coulter:* La técnica que utiliza se basa en la electromecánica. La muestra pasa por un orificio estrecho, la señal que produce es el resultado del cambio en la resistencia eléctrica, que nos permite cuantificar y clasificar estas células.
- *Contador por impedancia eléctrica:* La muestra se hace pasar por una celda de conteo y se mide la impedancia eléctrica, para determinar el tamaño y la cantidad de células presentes en la muestra.
- *Citometría de flujo con fluorescencia:* Utiliza la fluorescencia para medir las propiedades de las células sanguíneas. La muestra pasa por un canal de flujo y se ilumina con un láser para medir el grado de fluorescencia.

Otras pruebas complementarias

Prueba de Coombs o antiglobulina

Técnica inmunológica para detectar anticuerpos presentes en sangre que pueden unirse a los eritrocitos y producir su hemólisis. Hay dos modalidades, test de Coombs directo que se realiza sobre la muestra de sangre o la modalidad indirecta que se utiliza con muestras de suero. Se utiliza para el diagnóstico diferencial de las anemias hemolíticas, determinando si la hemólisis es debida a la presencia de anticuerpos o por otras condiciones extra/intracorpúsculares.

Prueba autohemólisis

Este método se utiliza para detectar alteraciones en la membrana o problemas metabólicos del eritrocito. Los hematíes se incuban a la temperatura corporal durante dos días y se estudia el tiempo que tarda en producirse la hemólisis, ya que, si disminuye hay sospecha de alguna anomalía. Útil en diagnóstico de anemias por déficit de glucosa-6-fosfato-deshidrogenasa o esferocitosis.

Prueba de fragilidad osmótica

Esta prueba tiene el objetivo de medir la resistencia osmótica eritrocitaria (ROE) cuando se somete una muestra de sangre a soluciones de NaCl en orden decreciente de concentración. En un ambiente cada vez más hipoosmolar, el glóbulo rojo introduce agua en su citoplasma aumentando su tamaño proporcionalmente. En condiciones normales puede llegar a aumentar en un 70% su volumen sin producirse la lisis. Esta técnica mide a qué concentración se lisan el 50% de los eritrocitos, para detectar posibles alteraciones en la membrana de los hematíes que lo hagan susceptible a hemólisis.

Una vez se produce la lisis y se libera hemoglobina al medio, esa concentración de hemoglobina es la que se mide por espectrofotometría. Si la lectura visual, detectar en qué tubo y a qué concentración de NaCl se produce la hemólisis: Un tubo con coágulo en el fondo y sobrenadante claro es negativo en hemólisis, pero si el sobrenadante cambia a un tono rojizo ya se está produciendo la hemólisis. Útil en el diagnóstico de esferocitosis, estomatocitosis y talasemias.

Concentración de haptoglobina

La haptoglobina es una proteína de síntesis hepática encargada de transportar la hemoglobina liberada tras la hemólisis al hígado para que se proceda a su degradación. Cuando el resultado está por debajo de lo normal, indica una posible anemia hemolítica. En estados inflamatorios sus niveles aumentan, es un reactante de fase aguda positivo.

Su rango de concentración normal puede estar entre 40 y 160 mg/dL.

Alteraciones eritrocitarias

El examen morfológico de las células sanguíneas es la base de cualquier estudio hematológico. Detectar anomalías en los elementos formes de la sangre son pasos claves para el diagnóstico de múltiples enfermedades hematológicas como, por ejemplo, la anemia. El frotis de sangre es la técnica más usada para detectar alteraciones de forma o tamaño al microscopio. La muestra se obtiene con una gota de sangre capilar tras la punción en un dedo o de una muestra venosa extraída con un tubo de EDTA (16).

Alteraciones en el tamaño de los eritrocitos

Anisocitosis

En una extensión normal, se observan tamaños y diámetros diferentes.

Microcitosis

El tamaño del eritrocito es $< 6\mu\text{m}$, por lo que el VCM se ve disminuido $< 75\text{ fL}$. Característico en las anemias ferropénicas y en talasemias.

Macrocitosis

El tamaño del eritrocito está aumentado, $8\text{-}11\mu\text{m}$, el VCM aumenta $>100\text{ fL}$. Característico de anemias por déficit de Vit B12 o megaloblástica, aplásicas y en hepatopatías crónicas.

Alteraciones en la forma de los eritrocitos

Cuando se observa la morfología de los eritrocitos con el microscopio, ya sea uno convencional o electrónico de barrido, se pueden encontrar las siguientes anomalías en cuanto a su forma:

Tabla 3. Anomalías estructurales más comunes (Elaboración propia).

DIANOCITOS (Forma de diana)	Una superficie más grande y son finos. La zona más externa es oscura, la zona intermedia es pálida y se aprecia mayor concentración de hemoglobina justo en el centro, de ahí su apariencia de diana. Alteración en la distribución de colesterol y lípidos.	<ul style="list-style-type: none"> • Talasemia • Hemoglobinopatía S-C • Anemia ferropénica • Anemia hemolítica • Trasplante de células madre • Hepatopatías crónicas.
ACANTOCITOS	Eritrocitos con espículas finas distribuidas de forma irregular en su membrana, debido a una afectación en los lípidos de membrana.	<ul style="list-style-type: none"> • Hepatopatía severa • α-β lipoproteinemia • Tratamiento con heparina • Esplenectomía • Anemias graves
EQUINOCITOS	Eritrocitos con espículas gruesas en su membrana, distribuidas de forma regular, con forma esférica.	<ul style="list-style-type: none"> • Insuficiencia renal • Déficit de piruvato-quinasa eritrocitaria.
ESFEROCITOS	Eritrocitos sin zona de palidez central, de menor diámetro y con forma esférica.	<ul style="list-style-type: none"> • Esferocitosis hereditaria (Anemia hemolítica) • Anemia hemolítica del recién nacido, por anticuerpos maternos. • Post-transfusión • Daño por toxinas
ELIPTOCITOS	Eritrocitos con forma alargada, redondeados y simétricos	<ul style="list-style-type: none"> • Anemia ferropénica • Talasemia • Anemia hemolítica • Síndrome mielodisplásico • Eliptocitosis congénita
DACRIOCITOS	Eritrocitos con forma de lágrima.	<ul style="list-style-type: none"> • Mielofibrosis primaria • Talasemia • Anemias hemolíticas • Anemia megaloblástica • Trasplante células madre
ESTOMATOCITOS	Eritrocitos en forma de bolsa, se observa una depresión acusada en la zona central.	<ul style="list-style-type: none"> • Xerocitosis hereditaria • Hepatopatía alcohólica • Administración de ciertos fármacos
ESQUISTOCITOS	Eritrocitos fragmentados con forma de casco y de tamaño pequeño $< 6\mu\text{m}$.	<ul style="list-style-type: none"> • Hemólisis por valvulopatía, por fragmentación mecánica. • Anemias hemolíticas o púrpura trombótica • Anemia de déficit Vit B₁₂
DREPANOCITOSIS	Eritrocito con forma semilunar, alargado y estrecho. Mala polimerización de HbS.	<ul style="list-style-type: none"> • Anemia falciforme

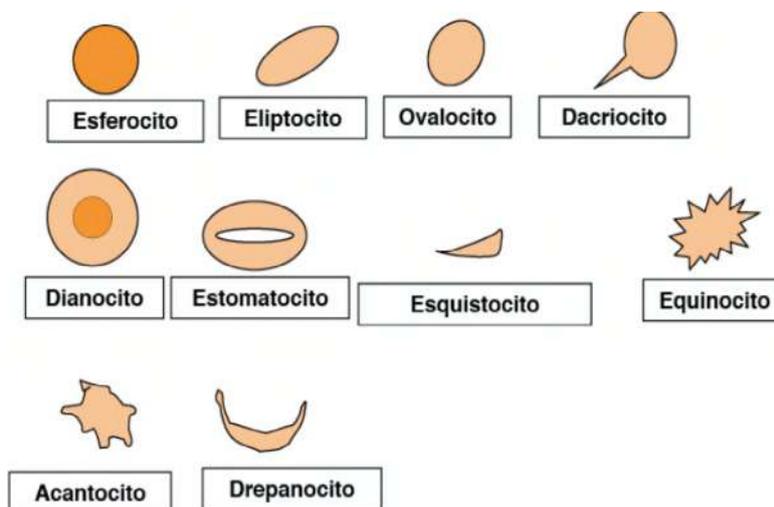


Figura 6. Alteraciones morfológicas en la membrana de los eritrocitos (8).

Alteraciones en la coloración y/o inclusiones eritrocitarias

La disminución o aumento en la coloración de los eritrocitos se puede estudiar gracias a la tinción de May Grünwald-Giemsa de estas células. Depende de la concentración de hemoglobina en el hematíe, este fenómeno se denomina cromasia y puede dar lugar a las siguientes alteraciones (17):

Hipocromía

La concentración de hemoglobina se ve disminuida, tanto la zona central como la exterior, se vuelven más pálidas. Característico de las anemias ferropénicas y las talasemias.

Hipercromía

Se produce un exceso de coloración por el aumento en la concentración de hemoglobina del eritrocito. Característico de la esferocitosis.

Las inclusiones intraeritrocitarias, son elementos inusuales que se detectan en el eritrocito maduro, gracias a las técnicas de tinción y su posterior observación al microscopio. Se deben estudiar detenidamente, para diferenciar las inclusiones intraeritrocitarias comunes de las producidas por presencia de parásitos en su citoplasma, como ocurre en infectados por la malaria. Las más comunes son:

Cuerpos de Pappenheimer

El glóbulo rojo presenta múltiples gránulos de hemosiderina en las zonas más exteriores de su citoplasma. Estas inclusiones se tiñen de violeta intenso tras la tinción de May Grünwald-Giemsa. Esta célula recibe el nombre de siderocito, y son características en el estudio hematológico de anemias sideroblásticas, hemolíticas, aplásicas y en situaciones de exceso de hierro almacenado.

Cuerpos de Heinz

Inclusiones localizadas en el margen de la pared del eritrocito que aparecen en casos de anemia por déficit de glucosa-6 fosfato-deshidrogenasa.



Figura 7. Muestra de eritrocitos con cuerpos de Pappenheimer (14).

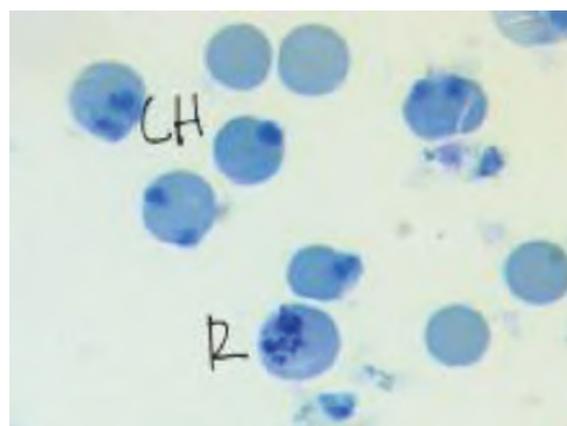


Figura 8. Muestra de eritrocitos con cuerpos de Heinz y reticulocitos (14).

Cuerpos de Howell Jolly

El eritrocito presenta inclusiones de tipo puntiforme y violetas, de tamaño medio, en la zona periférica de su citoplasma, están formados por restos del núcleo del eritroblasto que no han sido degradados y eliminados de forma correcta. Aparecen en pacientes con esplenectomía, puesto que dentro de las múltiples funciones que tiene el bazo,

se encuentra el eliminar las inclusiones eritrocitarias de este tipo.

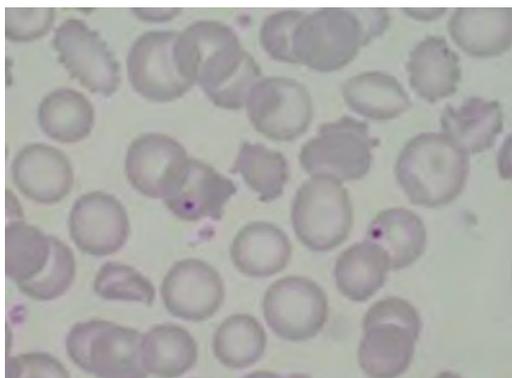


Figura 9. Muestra de eritrocitos con cuerpos de Howell Jolly (14).

Punteado basófilo

Este tipo de inclusión se produce como consecuencia de múltiples aglomeraciones de material ribosómico dentro del citoplasma, debido a un exceso de ácido ribonucleico. Aparecen en muestras de pacientes con una intoxicación por plomo y en ciertos casos de talasemia.

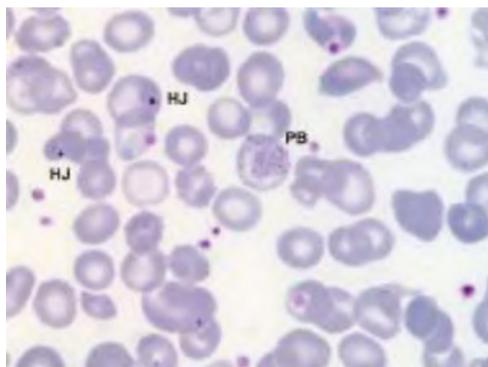


Figura 10. Muestra de eritrocitos con cuerpos de Howell Jolly y punteado basófilo (14).

Cuerpos o anillos de Cabot

Inclusiones en forma de anillo que se tiñen de violeta oscuro. Indican que el proceso de eritropoyesis está alterado, puesto que son restos de microtúbulos que formaban el huso mitótico o restos de la membrana nuclear del eritroblasto. Aparecen en intoxicaciones por plomo y hemoglobinopatías como la talasemia.



Figura 11. Muestra de eritrocitos con anillo de Cabot (14).

HEMOGLOBINA

Concepto

La hemoglobina es una proteína conjugada compuesta por un grupo hemo o grupo no prostético, y otra parte proteica llamada globina. Ocupa el 75% del volumen del glóbulo rojo y su función principal es el transporte de oxígeno desde los pulmones a los tejidos, como oxihemoglobina, y de dióxido de carbono de tejidos a pulmones como desoxihemoglobina. Un eritrocito contiene cerca de 270 millones de unidades de hemoglobina, Cada una puede transportar hasta cuatro moléculas oxígeno.

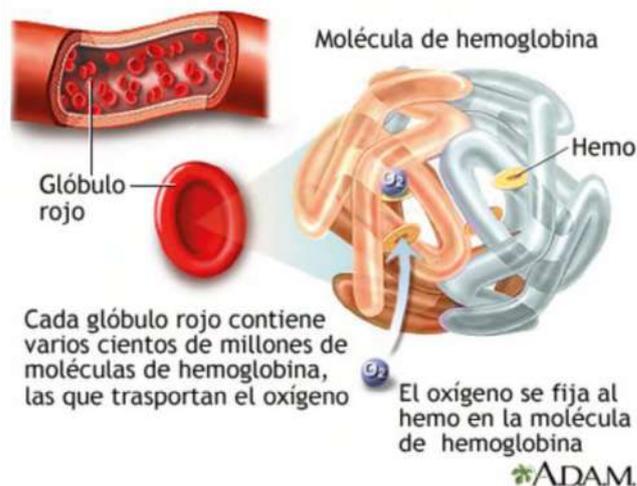


Figura 12. Estructura de la hemoglobina (18).

El grupo hemo contiene cuatro ferroporfirinas, compuestas por un anillo de protoporfirina IX (tetrapirrol cíclico que le proporciona el color rojo) en cuyo centro se encuentra un átomo de hierro en su forma reducida (Fe^{+2}).

La síntesis del grupo hemo es bicompartimental, las reacciones se dan a nivel mitocondrial y en el citosol. Este proceso se inicia en los eritroblastos policromatófilos y finaliza cuando está en su fase de reticulocito. Su desarrollo se da en cualquier parte del organismo, pero principalmente en la médula ósea e hígado. También se encarga de la regulación de la síntesis de cadenas globinas. Una vez se ha formado, se une a la cadena polipeptídica de la globina y da lugar a una de las cuatro subunidades de la hemoglobina.

La molécula de globina se compone de cuatro subunidades con estructura terciaria. Las cadenas polipeptídicas que forman cada una de ellas, se encuentran unidas por enlaces no covalentes que permiten una serie de pliegues sobre sí mismas en su estructura, formando un hueco donde se sitúa el grupo hemo de la molécula. En el ser humano existen 5 cadenas de globina diferentes: Alfa α , beta β , gamma γ , delta δ , épsilon ϵ y zeta ζ . A nivel genético, las cadenas alfa y zeta son codificadas por genes presentes en el cromosoma 16 y las restantes en el cromosoma 11. Estas cadenas se combinan de dos en dos, predominando unas parejas u otras, según la etapa de la vida en la que se encuentre el individuo o en situaciones patológicas (19).

Tabla 4. Clasificación de Hemoglobinas por etapas de la vida (Elaboración propia).

Embrionarias (Desde la concepción hasta semana 8-10)	Gower 1 (z2 ε2). Gower 2(α2 ε2) (Más abundante, 50-60%) Portland 1 (z2 γ2) 2 (z2 β2)
Fetales Semana 9 - Neonato	HbF(α2 γ2) (65-95% de HB en el neonato)
Adulto	HbA1(α2 β2) 95% de la Hb en adultos. HbA2(α2 δ2) 1-3% HbF(α2 γ2) 1%

Hemoglobina en el laboratorio

La hemoglobina es el parámetro más importante en las analíticas de rutina que se procesan en el laboratorio para la detección de anemias. El resultado da información sobre la cantidad de hemoglobina que hay en 100 mL de sangre (g/dL). También se utiliza para el cálculo de índices hematimétricos. Los valores estandarizados y de referencia que se utilizan para la población general, son los siguientes:

Tabla 5. Valores de referencia para niños y adultos de raza caucásica (Elaboración propia).

Neonato	14-18 g/dL
3-6 meses	10-13 g/dL
6m - 1 año	11-14 g/dL
1 año -7 años	11-14 g/dL
7-10 años	12-15 g/dL
10-14 años	Hombre: 11- 14g/dL Mujer: 12-15 g/dL
15-18 años	Hombre: 13-17 g/dL Mujer: 12-16 g/dL
Adultos	Hombre: 13-17 g/dL Mujer: 12-16 g/dL

Cabe destacar que estos valores también pueden estar alterados en ciertas circunstancias, sin tener una causa patológica. En la siguiente tabla se describen situaciones en las que el valor de hemoglobina puede estar aumentado o disminuido (20):

Tabla 6. Causas no patológicas de variación en la concentración de Hb (Elaboración propia).

↓ Valores de Hb	↑ Valores de Hb
Embarazo: Hipervolemia	Hemoconcentración por factores preanalíticos (Toma de muestra)
Anciano: ↓ Función renal ↓ EPO	↓ PpO ₂ ↑ EPO: Individuos que viven a gran altura
Raza negra: ↓ 0,5-1 g/dL.	Fumadores

Técnicas de laboratorio para el estudio de la hemoglobina

Electroforesis de hemoglobinas

Una técnica basada en la carga eléctrica de la hemoglobina, que se define por las cargas que tienen los aminoácidos que forman su parte proteica que es la globina. Cada cadena de globina tiene una carga específica, por lo que al realizar la electroforesis migrarán a diferente velocidad hacia el ánodo (en esta técnica la muestra se sumerge en medio alcalino, la globina adquiere carga negativa y migra hacia el ánodo). Para su lectura, se podrán observar una serie de bandas que nos indicarán la cantidad y las hemoglobinas que predominan en la muestra.

Determinación de hemoglobina A₂

La primera técnica que se utiliza es cromatografía de líquido-sólido para separar esta hemoglobina de las demás y después se cuantifica por espectrofotometría. En pacientes normales esta hemoglobina está en bajas concentraciones por lo que un aumento puede denotar una posible beta-talasemia o anomalías en la hemoglobina circulante (21).

ANEMIA

Concepto

Según la OMS "La anemia es una afección en la que el número de glóbulos rojos o la concentración de hemoglobina dentro de estos es menor de lo normal". Puede estar causado por una baja producción, eliminación rápida de eritrocitos o por pérdidas grandes de sangre, como ocurre en las hemorragias. Otro mecanismo, puede ser por déficits en la síntesis de hemoglobina. Como resultado, el transporte de oxígeno a los tejidos por estas células es insuficiente para cubrir su demanda fisiológica. Esta necesidad varía según la edad, sexo, hábitos y raza o situación geográfica.

Los datos recogidos en las distintas guías de hematología y la OMS, consideran que los valores críticos para determinar si hay anemia, son los representados en la siguiente tabla. Clasificados por edad, teniendo en cuenta concentración de hemoglobina y el resultado del hematocrito (22).

Tabla 7. Valores críticos para la confirmación de anemia (Elaboración propia).

Edad	Valores Hb	Hematocrito %
6m - 6 años	< 11g/ dL	< 33%
6 años - 14 años	< 12g/ dL	< 37%
Mujeres adultas	< 12g/ dL	< 35%
Varones adultos	< 13g/ dL	< 40%
Embarazadas	< 11g/ dL	< 33%

Actualmente, se considera un problema grave de salud pública. Un tercio de la población total padece esta afección y ciertos grupos destacan por tener mayor prevalencia, cerca de la mitad de la población infantil y embarazadas tienen anemia.

Determinar la masa eritrocitaria total es una técnica compleja, por lo que se utilizan los parámetros de hemoglobina, recuento eritrocitario y el resultado del hematocrito en analíticas de rutina para detectar posibles anemias en la población. Una vez se detecta, se procede a un estudio más profundo de su etiología para obtener un diagnóstico diferencial y proporcionar un tratamiento que restaure los valores a la normalidad (23).

Etiología de la anemia

El origen de esta enfermedad puede tener una causa clara y definida, o ser el resultado de la combinación de varios mecanismos. Los motivos principales por los que se produce la anemia son: Pérdida de sangre (más común); Disminución en la producción; Aumento de la destrucción de hematíes.

Las anemias más comunes son las producidas por falta de hierro. Los motivos principales son el agotamiento de las reservas de hierro que dan lugar a la anemia ferropénica o el bloqueo de la salida del hierro de las células que lo contienen, como ocurre en las enfermedades con inflamación crónica y algunos tipos de cáncer. También los defectos en la síntesis de hemoglobina como ocurre en las hemoglobinopatías o defectos en la síntesis de la membrana del eritrocito provocan que la vida útil de esta célula sea menor de los 120 días de media que puede estar circulando por sangre periférica.

Las alteraciones en la membrana que afectan a la flexibilidad del eritrocito como la esferocitosis hereditaria, tienen también como consecuencia una disminución en la vida del hematíe. Por último, déficits como el de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa o enfermedades hemolíticas como la hemoglobinuria paroxística nocturna, producen hemólisis ante situaciones de estrés celular al igual que las anemias hemolíticas con base inmune o no.

Para un diagnóstico claro y diferencial de esta enfermedad, se procede a un estudio completo con los siguientes datos (24):

- Historia clínica: anamnesis, signos y síntomas, historial familiar.
- Resultados de laboratorio: Hemograma completo y estudio morfológico de frotis sanguíneo. Parámetros para valorar los depósitos de hierro y transporte, midiendo niveles de ferritina, hierro plasmático, índice de saturación de transferrina, receptor soluble de transferrina y capacidad total de fijación de hierro. El nivel de reticulocitosis proporciona información sobre la respuesta medular ante la anemia.
- Otros factores: Edad, sexo, raza y medicación que tome el paciente.

Síntomas

Los síntomas de la anemia aparecen tras la activación de los mecanismos compensatorios que pone en marcha el organismo ante la falta de respuesta a la demanda de oxígeno en los tejidos. En casos leves tienen un comienzo asintomático o de instauración progresiva a medida que se agrava la bajada de masa eritrocitaria y/o de hemoglobina. Pero en casos graves o agudos, por ejemplo, una hemorragia intensa o una crisis aguda como ocurre en la anemia falciforme ante una situación de hipoxia, los síntomas son graves y se consideran una urgencia médica.

Síntomas neurológicos

- Dolores de cabeza, problemas de concentración y somnolencia.
- A nivel emocional hay irritabilidad.
- Puede disminuir el lívido.
- Pérdida de apetito.
- Hormigueo en extremidades, principalmente en manos y pies.

Síntomas cardiovasculares/musculares

- Debilidad y cansancio, principalmente cuando se realiza ejercicio, también astenia y calambres después del ejercicio.
- Taquicardia y aumento del gasto cardíaco.
- Hipotensión ortostática.

Casos más graves

- Escleróticas de los ojos con tono azul.
- Uñas quebradizas y con depresiones en su estructura.
- Palidez de la piel y mucosas.
- Glositis y aftas bucales.
- Síndrome de Pica (necesidad de masticar hielo).
- Dificultad respiratoria incluso en reposo, insuficiencia cardíaca, arritmias y pérdida de conocimiento.
- Acúfenos.
- Shock hipovolémico, en hemorragias graves.
- Ictericia, en casos de hemólisis intensas.

Clasificación de las anemias

Las anemias se pueden clasificar generalmente de dos formas: 1) Según el tamaño del eritrocito que circula por sangre periférica, como macrocíticas, microcíticas o normocíticas; 2) Según la respuesta de la médula ósea, como regenerativas o arregenerativas.

La clasificación según el tamaño tiene en cuenta el VCM y el diámetro del hematíe. Una anemia microcítica se caracteriza por presentar una gran cantidad de glóbulos rojos con un tamaño < 6 µm y un VCM < 80fL. En cambio, las macrocíticas se caracterizan por tener un tamaño mayor con un diámetro ≥ 8-9 µm y un VCM ≥ 100fL. Algunas anemias pueden presentar eritrocitos normocíticos.

Tabla 8. Clasificación de anemias por tamaño (Elaboración propia).

MICROCÍTICA	Anemia ferropénica Anemia de las enfermedades crónicas Anemia sideroblástica Talasemia Hemoglobinuria paroxística nocturna
MACROCÍTICA	Anemia megaloblástica Síndrome mielodisplásico Estomatocitosis hereditaria
NORMOCÍTICAS	Anemias hemolíticas (general) Anemia aplásica Comienzo de anemia enfermedad crónica Anemias por problemas renales

La segunda clasificación hace alusión a la capacidad de respuesta que tiene la médula ósea ante un aumento de la demanda en la síntesis de glóbulos rojos.

Anemia arregenerativa o centrales: La médula es incapaz de compensar la falta de hematíes aumentando la síntesis. Las causas más comunes suelen ser por aplasia medular que afecta a las células madre produciendo un bloqueo en la expansión de las distintas líneas celulares, intoxicación por fármacos o por falta de factores para la maduración de los eritroblastos. La anemia más destacada de esta clasificación es la anemia megaloblástica por déficit de vitamina B₁₂, ya que afecta a la síntesis de ADN de los nuevos eritrocitos.

La anemia regenerativa o periférica: Se caracteriza por un aumento en la producción de eritroblastos para compensar la bajada de glóbulos rojos cuando hay una destrucción aumentada o pérdida. Una hemorragia o la hemólisis, disminuye la vida útil de los eritrocitos, por ello la médula ósea tiene el objetivo de compensar ese desequilibrio. Se caracteriza por un aumento de células inmaduras en sangre periférica (25).

Tabla 9. Clasificación de anemias según la respuesta medular (Elaboración propia).

ANEMIAS ARREGENERATIVAS	<ul style="list-style-type: none"> • Anemia sideroblástica • Anemia ferropénica • Anemia de las enfermedades crónicas • Anemia megaloblástica • Anemia aplásica
ANEMIAS REGENERATIVAS	<ul style="list-style-type: none"> • Anemias hemolíticas y membranopatías • Enzimopatías • Hemoglobinopatías

Diagnóstico diferencial de anemias

Anemia ferropénica

El hierro es uno de los metales esenciales para el organismo, ya que forma parte de enzimas y proteínas fundamentales como los distintos citocromos, la hemoglobina y mioglobina. La anemia por déficit de hierro es la más común en la población general y se debe a la descompensación entre las necesidades de hierro para sintetizar nuevos eritrocitos, principalmente para su grupo hemo, y la disponibilidad de este elemento en el organismo. Una dieta baja en productos derivados de animales, mala absorción o problemas en el metabolismo del hierro, son las causas más comunes de este déficit.

El hierro de la dieta, tras la ingesta y su absorción a nivel intestinal en el duodeno, se reparte en 5 compartimentos: 1) Aproximadamente el 70% se encuentra en la hemoglobina; 2) De 25-30% se almacena en forma de ferritina y hemosiderina en los macrófagos del retículo endotelial en el hígado, el bazo y la médula ósea; 3) 5% en forma de mioglobina; 4) Un 0,5% se encuentra en enzimas, principalmente en citocromos cuyo papel fundamental es el transporte de electrones; 5) 0,1% unido a transferrina, que se encarga de su transporte desde las células intestinales hasta los eritroblastos para la síntesis del grupo hemo. En total, en hombres hay 3-4 g de hierro en el organismo y 2-3 g en mujeres.

Generalmente hay un equilibrio entre la absorción de hierro, la reutilización y las pérdidas. Cuando la demanda por parte de la médula es alta y no hay aporte suficiente, los primeros depósitos que se empiezan a consumir son los de ferritina en plasma, aumentando el transporte de hierro, por lo que aumentan los niveles de transferrina. Cuando los depósitos están al límite, ante la falta de hierro para sintetizar los grupos hemo y eritrocitos, se pueden observar glóbulos rojos *hipocrómicos* y *microcíticos* en sangre periférica.

Las causas más comunes que producen una deficiencia de hierro son:

- *Pérdidas abundantes y continuas de sangre:* Pacientes con algún problema a lo largo de sistema gastrointestinal como úlceras estomacales, pólipos en el intestino grueso, hemorroides o varices esofágicas, producen sangrados continuos que producen esta anemia ferropénica. También casos de hipermenorrea o sangrados ginecológicos por pólipos.
- *Aumento de síntesis con depósitos limitados:* hay un incremento de eritropoyesis debido a una reposición continua por pequeñas hemorragias como ocurre durante la menstruación, otro motivo puede ser el embarazo o problemas de absorción como ocurre con la celiaquía o enfermedades intestinales inflamatorias como la enfermedad de Crohn.
- *Descenso de hierro almacenado.* Suele ocurrir durante las primeras etapas de la vida cuando el crecimiento y desarrollo neurológico, aumentan la demanda de este metal. La adolescencia, el embarazo y los períodos de lactancia también son momentos de alto consumo.

Tabla 10. Valores críticos para diagnóstico de anemia ferropénica (Elaboración propia).

Hb	Hcto	VCM	HCM	CHCM	ADE
< 13 g/dL Hombre < 12 g/dL Mujer	< 43% Hombre < 35% Mujer	< 80 fL	< 27 pg	< 30 g/L	> 15%

Pruebas de laboratorio

- **Hemograma:** Hipocrómica y microcítica. Pero cabe matizar que en las primeras etapas puede ser normocrómica y normocítica, ya que ante la falta de hierro general se comenzarán a utilizar las reservas almacenadas. Primero se agotarán los depósitos de ferritina y posteriormente los de hemosiderina.
- **Sideremia:** Valores < 40 µg/dL de hierro sérico. Aumentarán los valores de transferrina y CFTH, en cambio la IST disminuirá < 15%.
- **Ferritina sérica:** Baja, pero se recupera tras el tratamiento con hierro. Útil para valorar la eficacia del tratamiento.
- **Tinción de Perls:** En casos de solicitar esta prueba, se observa una disminución en los depósitos de hierro en macrófagos y reticulocitos.
- **Microscopio:** Aumento de células inmaduras en frotis de sangre periférica.
- **Otros marcadores:** Descienden los valores de bilirrubina debido a la baja concentración de hemoglobina, se elimina menos (26).

Anemia de la enfermedad crónica

Patologías como infecciones, neoplasias, enfermedad renal o enfermedades autoinmunes que conlleven un período largo de inflamación son el origen de este tipo de anemia. Común en pacientes hospitalizados, oncológicos, enfermedades autoinmunes o de edad avanzada. Debido al aumento de citocinas en respuesta a la inflamación, se produce un atrapamiento de hierro almacenado que no se puede transportar, dando lugar a una eritropoyesis con deficiencia de hierro.

El sistema inmune produce sustancias proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa, sustancia que tiene efecto inhibitorio sobre la hematopoyesis en general.

En casos de enfermedad renal se ve afectada la producción de eritropoyetina, disminuyendo, afectando a la eritropoyesis. El aumento de urea y creatinina en sangre periférica provocan un aumento en la susceptibilidad del eritrocito a romperse de forma prematura.

La inflamación continua en hepatopatías como la cirrosis afecta a la síntesis de lipoproteínas, esto provoca alteración a nivel de síntesis de membrana de los diferentes eritrocitos. Pacientes con esta patología también pueden presentar hemorragias debido a varices esofágicas que sangran debido a estados de hipertensión portal. En el estudio morfológico de eritrocitos se detecta la presencia de equinocitos.

Pruebas de laboratorio

- **Hemograma:** Normocrómica y normocítica generalmente, el VCM es normal o bajo y ADE puede estar ligeramente aumentado.
- **Sideremia:** Cantidad de hierro sérico bajo y Ferritina alta > 100 ng/mL (reactante de fase aguda positiva, aumenta sus niveles cuando hay inflamación). La transferrina aumenta, CTFH disminuye y el IST normal o disminuye.
- **Tinción de Perls:** En la biopsia de médula se detecta un aumento de gránulos en los macrófagos presentes en la médula y una disminución de sideroblastos (27).

Anemia aplásica

En este tipo de anemias se ven afectadas las células madre pluripotentes y como consecuencia la hematopoyesis en general. En los resultados de laboratorio es común la pancitopenia o alteración de al menos 2 líneas celulares. Tiene una etiología amplia que se puede clasificar en anemias aplásicas congénitas o adquiridas.

- **Congénitas:** Anemia Fanconi, con herencia autosómica recesiva se produce por mutaciones en los genes FANC. Estos genes están implicados en la reparación del ADN, por lo que una anomalía da lugar a problemas en la síntesis de nuevas células sanguíneas
- **Adquiridas:** Producidas por un contacto continuo con un agente externo, dando lugar a un bloqueo de la hematopoyesis.
 - **Fármacos:** Generalmente destacan los tratamientos de quimioterapia como los responsables principales de anemias aplásicas en pacientes oncológicos debido a su alta mielotoxicidad. En estos casos la pancitopenia es más acusada. Por otro lado, hay tratamientos para la depresión, antiinflamatorios, antiepilépticos, antiarrítmicos y antipalúdicos que también afectan a la proliferación de las distintas líneas celulares.
 - **Radioterapia:** Las radiaciones ionizantes ejercen un efecto inhibitorio sobre la hematopoyesis.
 - **Infecciones víricas:** Infecciones por VIH, hepatitis B y citomegalovirus son los principales responsables de que se produzca esta anemia.
 - **Daño estructural u obstrucción de la médula:** En casos de metástasis óseas, tumores sólidos, enfermedad de Gaucher o Niemann Pick y leucemias.

También hay situaciones de etiología desconocida en las que se producen anemias aplásicas que afectan principalmente a la línea eritroide, como ocurre con la anemia Diamond-Blackfan, considerada enfermedad rara. Por otro

lado, están las anemias aplásicas idiopáticas relacionadas con timomas o presencia de anticuerpo contra precursores o factores de crecimiento como la eritropoyetina.

Pruebas de laboratorio

- **Hemograma: Normocroma y normocítica.** Hay reticulocitopenia y se ven afectadas las plaquetas y la serie granulocítica. Presencia de ligera anisocitosis.
- **Sideremia:** El hierro sérico está elevado pero la CTFH es normal.
- **Biopsia medular:** Se observa una baja cantidad de células, la aparición de placas debido a fibrosis en ciertas zonas de la médula roja y un aumento del tejido adiposo que ocupa la médula ósea amarilla.

La eritropoyetina se encuentra elevada, ante la hipoxia tisular se aumenta su producción, pero no se utiliza (28).

Anemias sideroblásticas

Este tipo de anemias están relacionadas con una sobrecarga de hierro. Se producen acumulaciones de hierro en macrófagos y en las células inmaduras de los eritrocitos. El hierro en los eritroblastos se acumula en forma de gránulos de hemosiderina, cuando se acumula también en las mitocondrias de estas células da lugar a sideroblastos en anillo (presencia de gránulos rodeando el núcleo y por el citoplasma). Como consecuencia, se produce estrés oxidativo dentro de la célula, es más susceptible y se ve alterada la eritropoyesis.

Su clasificación basada en la etiología es:

- **Anemia sideroblástica congénita:**
 - Anemia derivada de hemocromatosis hereditarias, una patología con sobrecarga de hierro que aumenta su absorción y almacenamiento.
 - Ligada al cromosoma X.
- **Anemia sideroblástica adquirida:**
 - Primaria: Síndromes mielodisplásicos.
 - Secundaria: Por intoxicaciones con plomo o déficits de vitamina B₆.

Debido al mal uso de los depósitos de hierro se ve afectada la síntesis de hemoglobina.

Pruebas de laboratorio

- **Hemograma: Microcítica, normocrómica y/o hipocrómica.** Presencia de anisocromía, ya que aparecen poblaciones tanto normocrómicas como hipocrómicas. Hay reticulocitopenia.
- **Sideremia:** La ferritina principalmente, el hierro sérico y el IST están aumentados, mientras que la CTFH está disminuida.
- **Tinción de Perls:** En la muestra se observa un claro aumento de los depósitos de hierro en macrófagos y eritroblastos, aparecen sideroblastos en anillo.

Microscopia: Con la tinción de May Grunwald-Giemsa se observan cuerpos de Pappenheimer dentro de los hemátis (29).

Anemias megaloblásticas

Las anemias megaloblásticas se producen por déficit de cianocobalamina y/o folatos. Ambas moléculas son claves para la síntesis de ADN, implicadas en la formación del trifosfato de timidina, y en la maduración nuclear. Ante un déficit de una o ambas, en la médula se sintetiza un material genético anómalo que afecta a la maduración y división del eritroblasto dando lugar a eritrocitos con forma redonda, más grandes y una membrana más frágil. Por lo que esta anemia puede presentar dos mecanismos: Una eritropoyesis ineficaz por falta de maduración y síntesis, dando lugar a eritrocitos sensibles a hemólisis cuando circulan en sangre periférica.

Déficit de vitamina B₁₂

La vitamina B₁₂ abunda en productos de origen animal. Se encuentra unida a proteínas, se libera cuando llega al pH ácido del estómago y en él necesita unirse a la haptocorrina (enzima secretada por las glándulas salivares) factor intrínseco que producen las células parietales del estómago, para facilitar su absorción una vez llega al íleon. Gracias a la transcobalamina, esta vitamina pasa a la circulación y se transporta a los diferentes tejidos.

El déficit de esta vitamina puede estar determinado por causas congénitas o adquiridas (30):

- **Congénitas:** Factor intrínseco afuncional o déficit de transcobalamina.
- **Adquiridas:** Dietas veganas estrictas, edad avanzada, síndromes de malabsorción, infección parasitaria de tenias o presencia de anticuerpos anti-factor intrínseco.

Déficit de Folatos

Presente principalmente en vegetales de hoja verde. Hay situaciones en las que se produce una alta demanda, como en el embarazo y las etapas de crecimiento. Pero también puede estar afectada su absorción en casos de alcoholismo crónico, dietas pobres en vegetales u hoja verde o síndromes de malabsorción.

Pruebas de laboratorio

- **Hemograma:** Aumento de VCM. Disminución de Hb, CHCM, eritrocitos y reticulocitos. También se puede detectar leucopenia y trombocitopenia.
- **Sideremia:** El hierro sérico puede estar elevado
- **Frotis sanguíneo:** Ovalocitos. Las inclusiones que se pueden observar son los cuerpos de Howell-Jolly, anillos de cabot y punteado basófilo.
- **Tinción de Perls:** Aumento de los depósitos de hierro en macrófagos y eritroblastos.

- *Determinar la concentración de vitamina B₁₂ en suero:* Valores referencia 205-870 pg/mL.
- *Prueba de Shilling:* Test para estudiar la absorción de cobalamina.
- *Concentración de folato en suero:* Valores referencia 1,7-2,7 ng/mL (31).

Anemias por hemoglobinopatías

Se denominan hemoglobinopatías a una serie de enfermedades congénitas que presentan una alteración en alguno de los genes implicados en la síntesis correcta de la hemoglobina.

Hemoglobinopatías por anomalías estructurales

El problema que caracteriza a estas hemoglobinopatías es la sustitución de un aminoácido durante la síntesis de las cadenas de globina (32).

➤ *Hemoglobinopatía S o Anemia falciforme*

El aminoácido afectado es la glutamina que se sustituye por valina en las cadenas beta de la globina, causando problemas en la síntesis de la HbA y provocando una predominancia de la HbS. Esta hemoglobina produce rigidez y alteraciones en la forma del hematíe en situaciones de hipoxia, adquiriendo una forma de hoz a la que se denomina drepanocito. Esta alteración en situaciones de hipoxia o estrés que disminuyan el pH sanguíneo, dificulta el paso de los eritrocitos por los capilares, dando lugar a eventos trombóticos y facilitando la hemólisis. Es característica de la raza negra.

Existen dos variantes posibles: La homocigótica que ante crisis graves produce una bajada intensa de las concentraciones de hemoglobina, ante crisis venoclusivas se produce un dolor intenso y tienen una tasa de mortalidad más alta; la heterocigótica que presenta menos crisis agudas, puesto que tiene compensada la síntesis de cadenas betas normales y anómalas.

En los resultados de laboratorio se observa:

- Concentración baja de hemoglobina. En homocigóticos 7-9 mg/dL
- Descenso de eritrocitos y aumento de reticulocitos.
- Frotis: Drepanocitos y en algunas ocasiones dianocitos.
- En la electroforesis predomina la hemoglobina fetal.

➤ *Hemoglobinopatía C*

En las cadenas beta se sustituye glutamina por lisina. Característica de la raza negra, en su forma heterocigótica se puede combinar con la hemoglobina S.

En los resultados de laboratorio se observa:

- Hemograma: VCM y HCM por debajo de lo normal, CHCM por encima.
- Frotis sanguíneo: Dianocitos

➤ *Hemoglobinas inestables*

En la síntesis de estas hemoglobinas la sustitución del aminoácido produce cambios en la unión de las cadenas beta y alfa, alterando a su vez a la interacción con el grupo hemo. Como resultado se produce una precipitación de la hemoglobina en el eritrocito que en el microscopio se puede identificar como cuerpos de Heinz. Estas inclusiones al ser detectadas por el sistema fagocítica nuclear son derivadas al bazo para su eliminación.

En los resultados de laboratorio se observa:

- Hemograma: VCM aumentada. Hb HCM y CHCM bajos.
- Frotis sanguíneo: Eritrocitos hipocrómicos. Presencia de cuerpos de Heinz y punteado basófilo.

Hemoglobinopatías por anomalías cuantitativas

En estas hemoglobinopatías se detecta ausencia de una cadena de globina.

➤ *β-Talasemia*

Hay afectación total o parcial de uno de los genes que codifican la síntesis de las cadenas beta, por lo que disminuye la síntesis de HbA y se compensa con síntesis de HbA2 y HbF. Tiene dos variantes: Una forma heterocigótica, es la más común de la raza caucásica, y se denomina Talasemia menor ($\alpha\alpha\beta^-$); su forma heterocigótica, la talasemia mayor con ausencia total de cadenas beta ($\alpha\alpha--$) (33).

En los resultados de laboratorio se observa:

- Hemograma: VCM bajo, microcítica y poliglobulia.
- Frotis sanguíneo: Dianocitos.
- En la talasemia menor, en la electroforesis encontraremos de HbA2 un valor entre 3,5 y 6% (en condiciones normales sólo es 1%), con presencia de hemoglobina fetal también. En talasemia mayor habrá un aumento significativo de la HbF, siendo la predominante en un 60-98% de la hemoglobina total.

➤ *α-Talasemia*

Presenta déficit total o parcial (rasgo talasémico) de la síntesis de cadenas alfa. Suele cursar asintomática. En un frotis de sangre se observa microcitosis (34).

➤ *Hemoglobinopatía H*

Dentro de las hemoglobinopatías es la más grave ya que hay delección de 3 de los 4 genes que se necesitan para la síntesis de las cadenas de globina. Se produce una anemia grave debido a la escasa síntesis de hemoglobina y el aumento de hemólisis debido a la precipitación de hemoglobina que se produce.

En los resultados de laboratorio se observa:

- Hemograma: Hb, VCM y CHCM bajos. Hay microcitosis e hipocromía.

- Frotis sanguíneo: Dianocitos y esquistocitos. Presencia HbH precipitada.

Anemias hemolíticas

La hemólisis es un proceso natural de eliminación de eritrocitos maduros que se realiza en el bazo principalmente. Existe un equilibrio entre la eliminación y la reposición de hematíes por parte de la médula, incluso en situaciones de alta demanda, la médula ósea incrementa su producción. El problema aparece cuando la hemólisis es temprana y/o continua, con una respuesta insuficiente por parte de la médula. La hemólisis puede ser intravascular o extravascular.

En el caso de la hemólisis intravascular, es característico la detección de altas concentraciones de hemoglobina y LDH en sangre. Las causas más comunes son: Transfusiones de sangre, debido a una reacción por incompatibilidad de Rh o grupo sanguíneo; defectos en las válvulas cardíacas; Infecciones por parásito o bacterias; Hemoglobinuria paroxística nocturna.

La hemólisis extravascular es la más común y se produce por: Defectos en la membrana del eritrocito; defectos en su metabolismo; alteraciones en la síntesis de hemoglobina; Infecciones como el paludismo o virus Epstein-Barr; fármacos; mecanismos de autoinmunidad (35).

Pruebas de laboratorio generales para detectar una anemia hemolítica

- *Hemograma: Normocítica* con posible aumento de VCM y policromatofilia (eritrocitos con diferente coloración). Reticulocitos aumentados.
- *Parámetros que detectan aumento en la hemólisis:*
 - Hemoglobina libre y hemosidenuria, signos de hemólisis intravascular.
 - LDH: Aumentada en plasma.
 - Haptoglobina y hemopexina: Bajas concentraciones.
 - Hemoglobinuria: Aparece en orina (oscura) cuando hay procesos de hemólisis crónica en las que, debido a las altas concentraciones de hemoglobina que se deben eliminar, no hay suficiente haptoglobina para evitar su filtración renal.
 - Prueba de Coombs directa o indirecta: Con el objetivo de detectar si es causa autoinmunitaria o por consumo de fármacos.
 - Resistencia osmótica eritrocitaria (ROE): Valores bajos, lo que denota alteraciones en la membrana que los hacen susceptible a hemólisis (36).
 - Bilirrubina: Aumento de la bilirrubina indirecta en plasma. Debido al aumento de eliminación del grupo hemo que se produce, aumentan los niveles de bilirrubina conjugada. En casos más graves se detecta un aumento significativo en urobilinógeno en orina.

Anemias congénitas por alteración en la membrana

➤ *Esferocitosis hereditaria o Enfermedad Chauffard-Minkowski*

Enfermedad de herencia autosómica dominante que produce alteraciones en la membrana del hematíe, específicamente en la proteína espectrina. Se produce una disminución en tamaño, al elevarse la concentración de hemoglobina el citoplasma está más espeso y como consecuencia la membrana es más susceptible a romperse (37).

En el laboratorio podemos observar:

- Hemograma: VCM bajo y aumento de CHCM ya que los eritrocitos son pequeños, pero con una concentración de hemoglobina proporcionalmente alta. Se aprecia una ligera microcitosis e hiper Cromía.
- Frotis: Esferocitos
- Valores ROE bajos.

➤ *Estomatocitosis hereditaria*

Dentro de esta patología se engloban dos subtipos: Hidrocitosis congénita y xerocitosis congénita.

En la hidrocitosis aumenta la permeabilidad y pierde agua de su citoplasma, se alteran tanto proteínas como lípidos de membrana.

En la xerocitosis esta deshidratación está más acusada y es característico la acumulación de hemoglobina en los extremos de los eritrocitos.

Los resultados de laboratorio denotan diferencias y similitudes:

- Común: Presentan niveles de hemoglobina y VCM normales.
- Diferencias:
 - Hidrocitosis: CHCM y ROE con valores bajos. En las tinciones se observan estomatocitos.
 - Xerocitosis: CHCM y ROE con valores aumentados. En las tinciones además de estomatocitos, se observan dianocitos.

Anemias congénitas por enzimopatías

➤ *Déficit de piruvato kinasa*

Esta enzima es esencial para el metabolismo de glucosa por vía glucolítica que realiza el eritrocito para la obtención de energía.

➤ *Déficit de glucosa-6 fosfato-deshidrogenasa*

La enzimopatía más común que hay en la población africana y mediterránea. Se trata de una enzima fundamental en el mecanismo oxidoreductor (vía de las pentosas-fo-

fato) que tiene el glóbulo rojo. Tiene la función de proporcionar glutatión como agente reductor en casos de estrés oxidativo. Por este motivo, las crisis de esta anemia hemolítica se agudizarán en infecciones, estados inflamatorios, consumo de habas (favismo) o consumo de ciertos fármacos como analgésicos o antimicrobianos. Ante un estado de estrés celular, la hemoglobina precipita y forma los cuerpos de Heinz. Tiene una herencia recesiva ligada al cromosoma X y se puede producir por diferentes mutaciones.

En frotis de sangre periférica se observan esquistocitos y en ciertas ocasiones cuerpos de Heinz (38).

Anemias adquiridas de origen inmunitario

➤ *Anemia hemolítica autoinmune*

Se produce una síntesis de IgG e IgM contra antígenos de la membrana del glóbulo rojo. Cuando el anticuerpo se une, activa el complemento y como consecuencia la hemólisis. Esta anemia se subdivide en dos tipos que dependen de la temperatura a la que se activa el proceso hemolítico.

- Autoanticuerpos calientes o termolisinas (37 °C). Predomina la hemólisis extravascular. Los resultados del frotis muestran esferocitos y esquistocitos en sangre periférica. El test de Coombs es positivo. Principalmente es por IgG.
- Autoanticuerpos fríos o crioaglutininas (0-20 °C). Normalmente se produce en pacientes que han pasado por in-

fección de virus como Epstein-Barr o citomegalovirus o que ya tenían una patología autoinmune de base, aunque a veces es de origen desconocido. Las muestras de sangre con este tipo de anemia son difíciles de procesar porque precipitan con facilidad. Para confirmar, se realiza la prueba de Coombs y es positiva.

Anemias adquiridas de origen no inmunitario

➤ *Hemoglobinuria paroxística nocturna*

Se puede producir por dos mecanismos que afectan a la actividad del complemento: Ausencia de factor acelerador de envejecimiento (DAF) o ausencia de la proteína encargada de fijar C8 en el complemento. Como consecuencia, se produce una susceptibilidad a la activación del complemento que acaba con la hemólisis del hematíe. La mutación se encuentra en el cromosoma X y afecta a la hematopoyesis en general ya que produce alteraciones en las células pluripotentes. Por lo que también se verán afectada la línea granulocítica, provocando susceptibilidad a infecciones que son la causa de crisis hemolíticas. Por otro lado, las alteraciones en las plaquetas provocan eventos trombóticos (39).

A nivel de laboratorio:

- Hemograma: Hay una bajada considerable de la hemoglobina y de hierro sérico, agudizada cuando hay crisis.

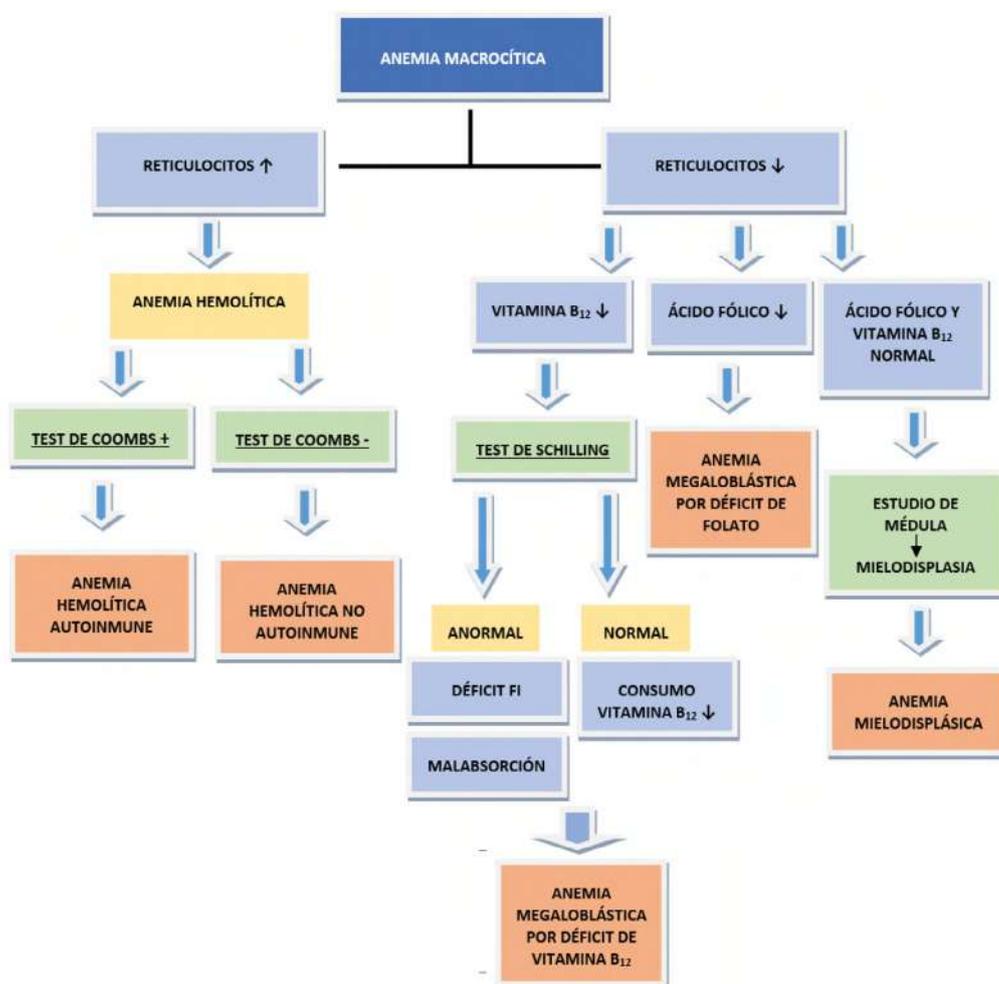


Figura 13. Algoritmo diagnóstico de las anemias macrocíticas (Elaboración propia).

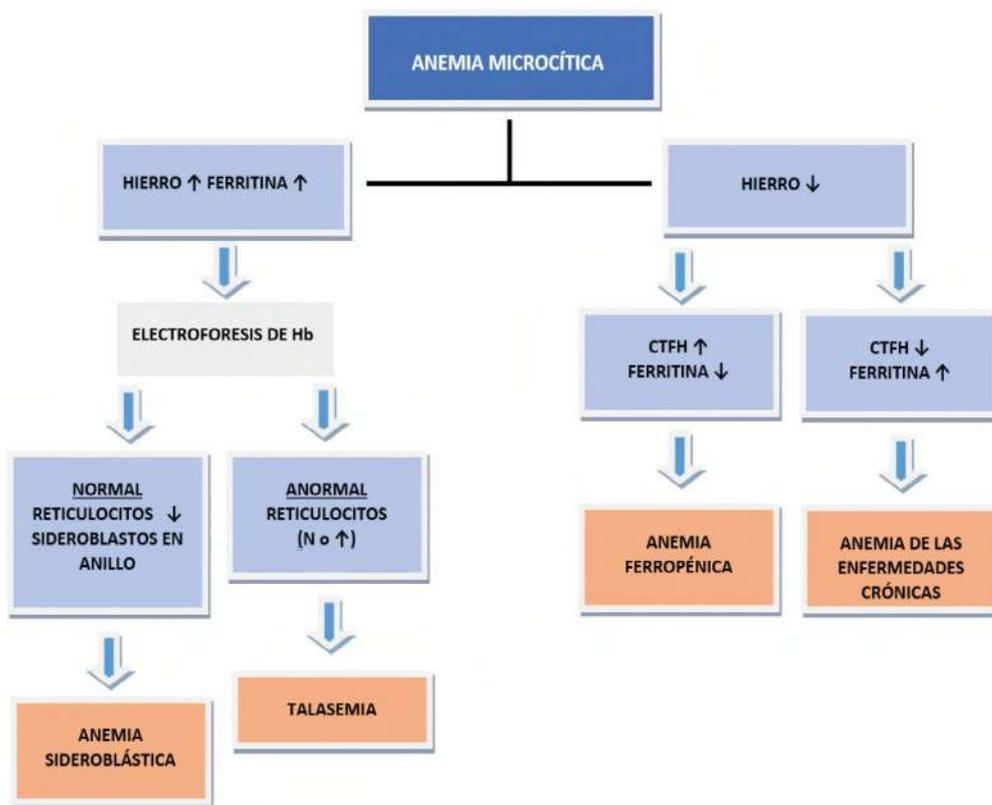


Figura 14. Algoritmo diagnóstico de las anemias microcíticas (Elaboración propia).

- Se observa una fuerte hemoglobinuria a la mañana siguiente de la crisis nocturna e incluso células epiteliales con hemosiderina precipitada.
- Frotis: Hay esferocitosis en sangre periférica.
- Test de Ham-Dacie positiva (se expone a los eritrocitos en un medio ligeramente ácido y se produce hemólisis).

Algoritmos para el diagnóstico diferencial de anemias

Para facilitar el diagnóstico diferencial entre unas anemias y otras, es de gran utilidad una vez que se obtienen los resultados de laboratorio, el uso de los diferentes algoritmos. Los más utilizados para el diagnóstico diferencial son los algoritmos que siguen las pautas de la clasificación según el tamaño (40-42):

BIBLIOGRAFÍA

1. Groarke EM, Young NS. Aging and hematopoiesis. Clin Geriatr Med [Internet]. 2019;35(3):285-93. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cger.2019.03.001>
2. Tomasian A, Jennings JW. Bone marrow aspiration and biopsy: techniques and practice implications. Skeletal Radiol [Internet]. 2022;51(1):81–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s00256-021-03882-w>
3. Jiménez M, Pregrado De Hematología JM. Pregrado de Hematología, 4a edición.
4. Méndez-Ferrer S, Scadden DT, Sánchez-Aguilera A. Bone marrow stem cells: current and emerging concepts: Concepts in the bone marrow
5. Gulletta E. Medicina de laboratorio: fundamentos y aplicaciones en el diagnóstico clínico. 2015.
6. Dzierzak E, Philipsen S. Erythropoiesis: development and differentiation. Cold Spring Harb Perspect Med [Internet]. 2013;3(4):a011601. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1101/cshperspect.a011601>
7. Drüeke TB, Massy ZA. Erythropoiesis-stimulating agents and mortality. J Am Soc Nephrol [Internet]. 2019 [citado el 2 de abril de 2023];30(6):907–8. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31015256/>
8. Corrons JLV, Bascompte JLA. Manual de técnicas de laboratorio en hematología. 2014.
9. De marzo de APELCADE. Manual de Laboratorio de [Internet]. Unam.mx. 2020. Disponible en: https://www.zaragoza.unam.mx/wp-content/Portal2015/Licenciaturas/qfb/manuales/4_MANUAL_LABORATORIO_HEMATOLOGIA_2020.pdf
10. Gaur M, Sehgal T. Reticulocyte count: a simple test but tricky interpretation! Pan Afr Med J [Internet]. 2021;40:3. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.11604/pamj.2021.40.3.31316>
11. Cacoub P, Choukroun G, Cohen-Solal A, Luporsi E, Peyrin-Biroulet L, Peoc'h K, et al. Iron deficiency screening is a key issue in chronic inflammatory diseases: A call to action. J Intern Med [Internet]. 2022;292(4):542–56. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1111/joim.13503>

12. Carrasco Carrasco M, García Espinosa B, Rubio Campal F. Fundamentos y Técnicas Análisis Hematológicos y Citológicos. Ediciones Paraninfo; 2004.
13. Lours C, Cottin L, Wiber M, Andrieu V, Baccini V, Baseggio L, et al. Perls' stain guidelines from the French-speaking Cellular Hematology Group (GFHC). *Diagnostics (Basel)* [Internet]. 2022;12(7):1698. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/diagnostics12071698>
14. Imágenes de las inclusiones intraeritrocitarias cogidas del atlas del Grupo Español de citología hematológica. 2.1.4 Inclusiones eritrocitarias [Internet]. Gechem.org. [citado el 30 de marzo de 2023]. Disponible en: https://atlas.gechem.org/index.php?option=com_k2&view=itemlist&task=category&id=26:2-1-4-inclusiones-eritrocitarias&lang=es
15. Zhang M, Gu L, Zheng P, Chen Z, Dou X, Qin Q, et al. Improvement of cell counting method for Neubauer counting chamber. *Clin Lab Med* [Internet]. 2020;34(1):e23024. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1002/jcla.23024>
16. Yan H, Ali A, Blanc L, Narla A, Lane JM, Gao E, et al. Comprehensive phenotyping of erythropoiesis in human bone marrow: Evaluation of normal and ineffective erythropoiesis. *Am J Hematol* [Internet]. 2021;96(9):1064–76. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1002/ajh.26247>
17. Risinger M, Kalfa TA. Red cell membrane disorders: structure meets function. *Blood* [Internet]. 2020;136(11):1250–61. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1182/blood.2019000946>
18. Hemoglobina [Internet]. Medlineplus.gov. [citado el 4 de abril de 2023]. Disponible en: https://medlineplus.gov/spanish/ency/esp_imagepages/19510.htm
19. Ahmed MH, Ghatge MS, Safo MK. Hemoglobin: Structure, function and allostery. *Subcell Biochem* [Internet]. 2020;94:345–82. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1007/978-3-030-41769-7_14
20. Thom CS, Dickson CF, Gell DA, Weiss MJ. Hemoglobin variants: biochemical properties and clinical correlates. *Cold Spring Harb Perspect Med* [Internet]. 2013;3(3):a011858. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1101/cshperspect.a011858>
21. Wajcman H, Moradkhani K. Abnormal haemoglobins: detection & characterization. *Indian J Med Res*. 2011;134:538–46.
22. Anaemia [Internet]. Who.int. [citado el 7 de marzo de 2023]. Disponible en: <https://www.who.int/health-topics/anaemia>
23. Turner J, Parsi M, Badireddy M. Anemia. 2023 [citado el 20 de marzo de 2023]; Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29763170/>
24. Chaparro CM, Suchdev PS. Anemia epidemiology, pathophysiology, and etiology in low- and middle-income countries. *Ann N Y Acad Sci* [Internet]. 2019;1450(1):15–31. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1111/nyas.14092>
25. Vohra R, Hussain A, Dudyala AK, Pahareeya J, Khan W. Multi-class classification algorithms for the diagnosis of anemia in an outpatient clinical setting. *PLoS One* [Internet]. 2022;17(7):e0269685. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0269685>
26. Merino A. Manual de citología de sangre periférica y líquidos biológicos. Editorial Médica Panamericana; 2020.
27. Gangat N, Wolanskyj AP. Anemia of chronic disease. *Semin Hematol* [Internet]. 2013 [citado el 5 de abril de 2023];50(3):232–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1053/j.seminhematol.2013.06.006>
28. Peslak SA, Olson T, Babushok DV. Diagnosis and treatment of aplastic anemia. *Curr Treat Options Oncol* [Internet]. 2017;18(12):70. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s11864-017-0511-z>
29. Braunstein EM. Anemias sideroblásticas [Internet]. Manual MSD versión para profesionales. [citado el 12 de abril de 2023]. Disponible en: <https://www.msmanuals.com/es-es/professional/hematolog%C3%ADa-y-oncolog%C3%ADa/anemias-causadas-por-deficiencia-de-la-eritropoyesis/anemias-siderobl%C3%A1sticas>
30. Candelario N, Klein C. Megaloblastic anemia due to severe vitamin B12 deficiency. *Cleve Clin J Med* [Internet]. 2022;89(1):8–9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3949/ccjm.89a.21041>
31. Wu Q, Liu J, Xu X, Huang B, Zheng D, Li J. Mechanism of megaloblastic anemia combined with hemolysis. *Bioengineered* [Internet]. 2021;12(1):6703–12. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1080/21655979.2021.1952366>
32. Hartevelde CL, Achour A, Arkesteijn SJG, Ter Huurne J, Verschuren M, Bhagwandien-Bisoen S, et al. The hemoglobinopathies, molecular disease mechanisms and diagnostics. *Int J Lab Hematol* [Internet]. 2022;44 Suppl 1(S1):28–36. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1111/ijlh.13885>
33. Sauntharajah Y. β -Hemoglobinopathies lead the way. *Blood* [Internet]. 2021;137(12):1567–9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1182/blood.2020009961>
34. Farashi S, Hartevelde CL. Molecular basis of α -thalassaemia. *Blood Cells Mol Dis* [Internet]. 2018;70:43–53. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcmd.2017.09.004>
35. Phillips J, Henderson AC. Hemolytic anemia: Evaluation and differential diagnosis. *Am Fam Physician*. 2018;98(6):354–61.
36. Goodhead LK, MacMillan FM. Measuring osmosis and hemolysis of red blood cells. *Adv Physiol Educ* [Internet]. 2017;41(2):298–305. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1152/advan.00083.2016>

37. Vives-Corróns J-L, Krishnevskaya E, Rodríguez IH, Ancochea A. Characterization of hereditary red blood cell membranopathies using combined targeted next-generation sequencing and osmotic gradient ektacytometry. *Int J Hematol* [Internet]. 2021;113(2):163–74. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s12185-020-03010-9>
38. Luzzatto L, Ally M, Notaro R. Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Blood* [Internet]. 2020;136(11):1225–40. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1182/blood.2019000944>
39. Szlendak U, Budziszewska B, Szychalska J, Drozd-Sokołowska J, Patkowska E, Nowak J. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: advances in the understanding of pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Pol Arch Intern Med* [Internet]. 2022;132(6). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.20452/pamw.16271>
40. Hariz A, Bhattacharya PT. Megaloblastic Anemia. 2023; Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30725939/>
41. Torrens M. INTERPRETACIÓN CLÍNICA DEL HEMOGRAMA. *Rev médica Clín Las Condes* [Internet]. 2015;26(6):713–25. Disponible en: <https://www.el-sevier.es/es-revista-revista-medica-clinica-las-condes-202-articulo-interpretaciyn-clynica-del-hemograma-S0716864015001480>
42. Alvarez-Argüelles H, Raya Sánchez JM, García Hernández S, Martín Santos T, Brito Barroso ML, Martín Herrera A, et al. Correlación entre los depósitos de hemosiderina en biopsias de médula ósea y marcadores séricos de hierro corporal: validación de un método semicuantitativo de evaluación de la tinción de Perls. *Rev Esp Patol* [Internet]. 2012;45(4):218–23. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1699885512000542>