

3. Estudio de las anemias microcíticas en el laboratorio clínico

STUDY OF MICROCYTIC ANEMIAS IN THE CLINICAL LABORATORY

Sonia Pérez San Martín

Licenciada en Ciencias Químicas y en Bioquímica por la Universidad de Oviedo.

Laura Gómez Fernández

Licenciada en Ciencias Biológicas por la Universidad Complutense de Madrid.

RESUMEN

El objetivo de este artículo es la actualización de los conocimientos en el estudio de las anemias microcíticas, la interpretación tanto de los parámetros clásicos como de aquellos más novedosos del hemograma y de los parámetros bioquímicos que se utilizan en la evaluación de las anemias, los principios tecnológicos que utilizan los diferentes analizadores hematológicos y remarcar la importancia que tiene la fase preanalítica para garantizar la fiabilidad y trazabilidad de los resultados obtenidos.

Palabras clave: Anemia microcíticas, hemograma, analizadores hematológicos, hematimetría, talasemia, diagnóstico.

ABSTRACT

The aim of this article is to update knowledge in the study of microcytic anemias, the interpretation of both classical and novel blood count parameters and biochemical parameters used in the evaluation of anemias, the technological principles used by the different blood analysers and stress the importance of the pre-analytical phase to ensure the reliability and traceability of the results obtained.

Keywords: Microcritical anemia, hemogram, hematologic analyzers, hematimetry, thalassemia, diagnosis.

1. DEFINICIÓN Y CLASIFICACIÓN DE LAS ANEMIAS

1.1. Introducción

La anemia es uno de los hallazgos más frecuentes que se va a encontrar el especialista de Laboratorio Clínico en su labor diaria. La *Organización Mundial de la Salud* (OMS) estima que el 30% de la población mundial presenta anemia, lo que supone que afecta a aproximadamente 2.000 millones

de personas. Si hablamos de población en edad preescolar la cifra de prevalencia asciende al 47% y en mujeres gestante al 42%. En España la prevalencia es del 12,9% en niños en edad preescolar y del 17,6% en mujeres embarazadas (1).

La elevada prevalencia hace fundamental adquirir las habilidades necesarias para poder orientar el origen fisiopatológico de la anemia y así poder derivar al paciente al especialista correspondiente (1).

La hematimetría tendrá un papel fundamental, ya que nos va a permitir aclarar o encauzar el diagnóstico, siempre teniendo en cuenta la historia clínica del paciente.

1.2. Anemia: definición y clínica

La anemia se define como una disminución de la concentración de la hemoglobina circulante, que se acompaña de un descenso del hematocrito y, a veces, de una disminución de la masa eritrocitaria, por debajo de los límites considerados normales. Una concentración baja de hemoglobina causa una inadecuada oxigenación para cubrir las necesidades fisiológicas del organismo, lo que origina la clínica del síndrome anémico. (1, 2, 3)

La OMS ha establecido como valores diagnósticos de anemia una concentración de hemoglobina menor de 13 g/dL en los hombres, por debajo de 12 g/dL en las mujeres y en embarazadas, valores inferiores a 11 g/dL(1, 2, 3).

La concentración de hemoglobina varía según el volumen plasmático, por lo que en la evaluación inicial deben tenerse en cuenta las situaciones fisiológicas o patológicas que causen hemodilución o hemoconcentración. En las situaciones que exista hemodilución tendremos una concentración de hemoglobina relativamente baja, sin que exista realmente anemia y, por tanto, ni mala oxigenación tisular. Con la hemoconcentración ocurrirá lo contrario, al reducirse el volumen plasmático la concentración relativa de hemoglobina aumentará, pudiéndose enmascarar una anemia verdadera. A continuación, se enumeran las situaciones más comunes que modifican el volumen plasmático: (1, 4)

- *Hemodilución:* embarazo, insuficiencia cardíaca congestiva, esplenomegalia, mieloma, hiperviscosidad, hiperhidratación, cirrosis, nefrosis, extracción de vía, etc.
- *Hemoconcentración:* deshidratación, cetoacidosis, paracentesis o diálisis peritoneal recientes.

Hay que tener claro que la anemia es un signo patológico, no una enfermedad, el cual no ha de ignorarse, ya que puede ser un signo precoz de una patología más compleja que requiera de un diagnóstico y tratamiento precoz. (3)

El síndrome anémico es la expresión clínica de la inadecuada oxigenación de los tejidos y de los mecanismos adaptativos del organismo para compensarlo. La clínica es variada, dependiendo de la intensidad y, sobre todo, de la velocidad de instauración del proceso anémico, así

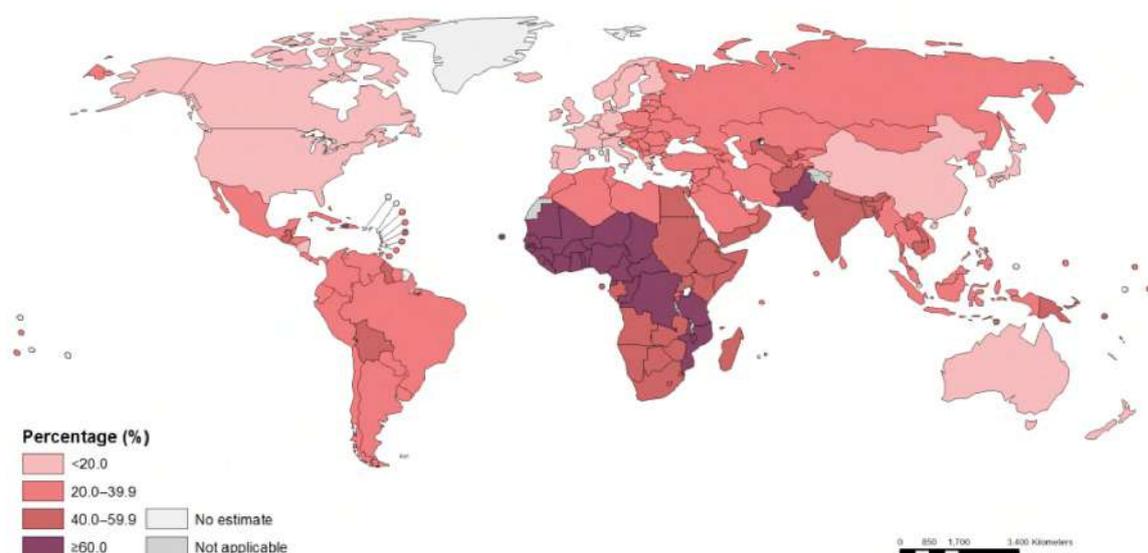


Figura 1. Prevalencia mundial de anemia en el 2011 en niños menores de 5 años. Tomado de: WHO. *The global anaemia prevalence in 2011*. Geneva: World Health Organization; 2015.

como de otros factores asociados como la edad y la existencia de antecedentes cardiovasculares. Los principales síntomas y signos se recogen en la tabla 1. (1, 3)

Tabla 1. Síntomas y signos del síndrome anémico.

Generales	Astenia, palidez mucocutánea, laxitud, debilidad muscular, calambres e intolerancia al esfuerzo
Cardiovasculares	Disnea, taquicardia, soplo sistólico funcional, aumento de la tensión diferencial, insuficiencia cardiaca, arritmias, hipotensión postural y shock hipovolémico
Gastrointestinales	Anorexia, digestiones pesadas, náuseas y estreñimiento Anemias por problemas renales
Neurológicos	Cefalea, acúfenos, mareos, disminución de la concentración, irritabilidad, somnolencia, insomnio, confusión, letargia, pérdida de memoria y midesopsias (visión de “moscas volantes”)
Genito-urinario	Amenorrea, disminución de la lívido y edemas

Según la velocidad de instauración de la anemia hablaríamos de anemias agudas y crónicas. Las anemias agudas son de instauración rápida, por lo que el cuerpo no tiene tiempo de establecer los mecanismos adaptativos, presentándose la clínica más exacerbada: taquicardia, hipotensión postural, síntomas neurológicos, shock cardiogénico o hipovolémico.

Las anemias crónicas son de instauración paulatina, por pequeñas pérdidas, por lo que el organismo puede adaptarse y compensar el estado anémico. Por ello suelen ser asintomáticas al inicio del proceso, aunque los pacientes pueden presentar palpitaciones o sudoración de esfuerzo.

También se pueden observar signos clínicos secundarios al origen fisiopatológico de la anemia, como la coiloniquia (estriación y deformación de las uñas) que es típico de la anemia ferropénica, la ictericia que aparece con la anemia de origen hemolítico, la parestesia o dificultad en la marcha en los déficits de vitamina B₁₂, la deformación ósea de la talasemia mayor y las úlceras en los miembros inferiores en la esferocitosis y en la anemia falciforme (1).

1.3. Clasificación

Hay dos sistemas de clasificación de las anemias, uno en función de criterios etiopatogénicos y otro bajo un punto de vista morfológico. La clasificación ampliamente usada es la basada en la morfología del hematíe, con los datos hematimétricos proporcionados por los analizadores hematológicos, ya que nos va a permitir orientar el diagnóstico y saber que pruebas de Laboratorio realizar para conocer el origen fisiopatológico de la anemia.

1.3.1. Clasificación etiopatogénica

La masa eritrocitaria circulante en cada momento es resultado del equilibrio entre la producción medular y la liberación a la circulación sanguínea y su destrucción o pérdida. Situaciones que causen un desequilibrio, se traducirán en un estado anémico. Por lo tanto, la anemia es consecuencia básicamente de tres mecanismos o su combinación (1):

- Disminución de la producción de hematíes
- Aumento de la destrucción de los hematíes
- Pérdida de sangre

Cuando el mecanismo principal es una incapacidad en la producción de hematíes por parte de la médula ósea (eritropoyesis) o una alteración en la maduración eritrocitaria, hablamos de anemias centrales, arregenerativas o

Tabla 2. Clasificación etiopatogénica de las anemias y principales causas. Modificado de: Sánchez Godoy P, Sánchez Salinas A, Moraleda Jiménez JM. Anemia: concepto, clínica y clasificación. En: Moraleda Jiménez JM, editor. Pregrado de Hematología. 4ª ed. Madrid: Luzán 5; 2017. p. 35-55.

ANEMIA	CAUSAS	
Centrales o arregenerativas	Alteración de la célula madre (insuficiencia medular)	Eritroblastopenia, aplasia medular, diseritropoyesis congénita, síndromes mielodisplásicos
	Infiltración tumoral	Enfermedades hematológicas, tumor sólido
	Déficits y/o trastornos metabólicos de la eritropoyesis	Déficit de hierro, vitamina B12, ácido fólico, eritropoyetina, hormonas tiroideas, andrógenos, corticoides
Periféricas o regenerativas	Hemorragias	Agudas
	Hemólisis intracorporales	Membranopatías, enzimopatías, hemoglobinopatías
	Hemólisis extracorporales	Agentes tóxicos, agentes infecciosos, causas mecánicas, inmunológicas, hiperesplenismo

hipoproliferativas. Se caracterizan por unos niveles de reticulocitos disminuidos (1, 5).

Hablaremos de anemias periféricas cuando el principal mecanismo etiopatogénico sea el aumento de la destrucción de hematíes o las pérdidas sanguíneas. También se las conoce como anemias regenerativas, ya que al conservarse la eritropoyesis el organismo compensa la disminución de las cifras de hematíes a nivel periférico aumentando la producción de eritroblastos en la médula ósea, lo que se traduce en unas cifras aumentadas de reticulocitos (1, 5).

En la clasificación etiopatogénica es fundamental conocer el carácter regenerativo o no de la anemia, por lo que la determinación de los reticulocitos será el primer estudio de Laboratorio ante el hallazgo de anemia. (4)

Los reticulocitos se expresan en porcentaje (Valor de referencia: 0.5 – 2 %) o en valor absoluto (Valor de referencia: 25.000 – 85.000/μL). Es más fiable usar los valores absolutos ya que el porcentaje puede estar falsamente elevado cuando el recuento de eritrocitos sea bajo. Otra opción es usar el índice reticulocitario o de producción reticulocitario (IP o IPR) (1, 4):

$$IPR = \frac{\text{Reticulocitos \%} \times (\text{Hematocrito real} / 45)}{1 + [(45 - \text{Hematocrito real}) \times 0.05]}$$

Un IPR menor de 2 indica una anemia hipoproliferativa y un IPR mayor de 3 indica una anemia regenerativa (1, 4).

En la tabla 2 se recogen las diferentes causas de ambos tipos de anemias.

1.3.2. Clasificación morfológica

La clasificación morfológica es de gran utilidad clínica y se basa en cambios en el tamaño y contenido de hemoglobina del hematíe, informados por los contadores hematológicos y confirmados en la revisión del frotis de sangre periférica (1).

Los índices eritrocitarios son cálculos matemáticos propuestos por Wintrobe para evitar la subjetividad del estudio morfológico. Los empleados en el estudio de las anemias son (4):

- **Volumen Corpuscular Medio (VCM):** informa sobre el volumen promedio de los hematíes.

$$VCM \text{ (fL)} = \text{Hematocrito \%} \times 10 / \text{Hematíes (x10}^{12}/\text{L)}$$

- **Hemoglobina Corpuscular Media (HCM):** informa sobre la cantidad promedio de hemoglobina en el hematíe.

$$HCM \text{ (pg)} = \text{Hemoglobina (g/dL)} \times 10 / \text{Hematíes (x10}^{12}/\text{L)}$$

- **Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM):** informa sobre la concentración promedio de hemoglobina en el hematíe.

$$CHCM \text{ (g/dL)} = \text{Hemoglobina (g/dL)} \times 100 / \text{Hematocrito \%}$$

- **Ancho de distribución eritrocitaria (ADE):** nos indica la variación en el tamaño del hematíe. Valor normal: 13 ± 2%.

Con el VCM clasificamos las anemias según el tamaño del hematíe en anemias microcíticas (VCM < 80 fL), normocíticas (VCM 80 – 100 fL) y macrocíticas (VCM > 100 fL). Y con el HCM según la cantidad de hemoglobina en hipocrómicas (HCM < 27 pg) e hiperocrómicas (HCM > 33 pg)(1, 4, 5).

El VCM tiene una estrecha correlación con el HCM, por lo que las anemias microcíticas son hipocrómicas y las macrocíticas suelen asociarse con hiperocromía. La excepción a la norma ocurre en las esferocitosis, que cursan con anemias microcíticas pero hiperocrómicas (4).

1.4. Anemias microcíticas

La microcitosis (VCM < 80 fL) suele reflejar una disminución de hemoglobina dentro de los glóbulos rojos, y a menudo, se asocia con una reducción de la hemoglobina corpuscular media (HCM), que da lugar a una apariencia hipocrómica de los hematíes si se observan en un frotis de sangre periférica. Existen diversas patologías, tanto adquiridas como congénitas, que pueden dar lugar a una alteración en la eritropoyesis que den lugar a la producción de eritrocitos de menor tamaño y menor hemoglobina corpuscular.

Las causas más frecuentes de anemia microcítica son la deficiencia de hierro, la talasemia y la anemia asociada a trastornos crónicos.

Tabla 3. Clasificación de las anemias según la morfología eritrocitaria y sus principales causas. Tomado de: Moya Martín C, Gómez Fernández L, Almazán Alonso C, Pascual Gómez JL. Valores de alerta en el hemograma. En: Varó Sánchez GM, Sáez-Benito Godino A, editores. Manual de Urgencias del Laboratorio Clínico 2013. 1º ed. Madrid: SCI S.L; 2013. p. 44-57.

ANEMIA	VCM	HCM	CAUSAS
Microcítica Hipocrómica	Disminuido	Disminuido	<ul style="list-style-type: none"> • Déficit de hierro • Talasemias • Anemia de los procesos crónicos • Anemia sideroblástica
Normocítica Normocrómica	Normal	Normal	<ul style="list-style-type: none"> • Inicio de déficit de hierro • Anemia de los procesos crónicos • Anemia de insuficiencia renal • Hemorragia aguda • Anemia hemolítica
Macrocítica	Elevado		<ul style="list-style-type: none"> • Reticulocitosis (tras una hemorragia o anemia hemolítica) • Anemia megaloblástica • Alcoholismo • Hipotiroidismo • Hepatopatía • Síndromes mielodisplásicos • Anemia aplásica

En menor frecuencia, pueden causar anemia microcítica bien porque interfieren en la síntesis de la hemoglobina o porque causa hemólisis, la anemia sideroblástica, la deficiencia de cobre o intoxicación por plomo o por zinc (6).

Tabla 4. Causas de anemia microcítica. Modificado de: (6)

Enfermedades hereditarias
Defectos en la síntesis de hemoglobina <ul style="list-style-type: none"> • Síndromes talasémicos • Hemoglobinopatías • Defectos en el metabolismo del hierro • Anemia ferropenia refractaria a hierro (IRIDA) • Atransferrinemia • Mutaciones DMT1 • Anemia sideroblástica
Enfermedades adquiridas <ul style="list-style-type: none"> • Anemia ferropénica • Anemia asociada a trastornos crónicos • Síndrome mielodisplásico • Anemias sideroblásticas • Deficiencia de cobre • Intoxicación por plomo • Intoxicación por zinc

1.5. Puntos clave

A continuación, se enumeran algunos hallazgos de interés en el hemograma y su interpretación diagnóstica (2):

1. El VCM es el parámetro del hemograma que tiene mayor estabilidad en el paciente, así que cualquier modificación, con el mismo instrumento y en el mismo laboratorio, superior a 5 fL es significativa, aun en ausencia de anemia u otros hallazgos en la sangre, y justifica plenamente los estudios complementarios.
2. Nunca se debe olvidar que la presencia de anemia suele indicar la existencia de una enfermedad sistémica.
3. Una anemia intensa puede causar taquicardia, hipotensión postural e incluso un fallo cardiaco.
4. La anemia microcítica cursa con un VCM < 80 fL. Las causas más frecuentes son la anemia ferropénica y las talasemias.

1.6. Bibliografía

1. Sánchez Godoy P, Sánchez Salinas A, Moraleda Jiménez JM. Anemia: concepto, clínica y clasificación. En: Moraleda Jiménez JM, editor. Pregrado de Hematología. 4º ed. Madrid: Luzán 5; 2017. p. 35-55.
2. Moya Martín C, Gómez Fernández L, Almazán Alonso C, Pascual Gómez JL. Valores de alerta en el hemograma. En: Varó Sánchez GM, Sáez-Benito Godino A, editores. Manual de Urgencias del Laboratorio Clínico 2013. 1º ed. Madrid: SCI S.L; 2013. p. 44-57.
3. García Hernández AM, Berenguer Piqueras M. Protocolo diagnóstico diferencial del síndrome anémico. Madrid: Asociación Española de Laboratorio Clínico; 2018.
4. Font López P. Interpretación de los resultados del perfil hematológico. Madrid: Asociación Española de Biopatología Médica; 2008.
5. Merino A. Diagnóstico diferencial de las anemias. En: Merino A, editor. Manual de citología de Sangre Periférica y Líquidos biológicos. 2º ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2019. p. 95-119.
6. Leung LK. Approach to the adult with anemia. [Monografía en Internet]. Wolters Kluwer: UpToDate; 2020 [acceso 22 de octubre de 2020]. Disponible en: <http://www.uptodate.com>.

2. EL HEMOGRAMA

El hemograma o recuento de células sanguíneas es una de las pruebas más solicitadas al laboratorio clínico y uno de los estudios que aporta mayor información de la homeostasis del sistema hematopoyético de un individuo, ya que (1):

- Refleja el correcto funcionamiento de la médula ósea o su alteración.
- Proporciona ayuda para el diagnóstico de ciertas enfermedades, especialmente aquellas de origen hematológico y para el seguimiento en diversas enfermedades, como renales, hepáticas, digestivas, inflamatorias, autoinmunes y neoplásicas.

- Refleja la capacidad del organismo para reaccionar frente a la enfermedad.

Así, el hemograma es un análisis de sangre, que permite conocer y medir los tres tipos básicos de células que contiene la sangre; leucocitos, eritrocitos y plaquetas, tanto en porcentaje como en número absoluto.

La interpretación de los datos aportados por el hemograma se debe realizar conjuntamente con los datos de la historia clínica y la exploración física del enfermo. Por último, en ocasiones, los simples datos numéricos no son suficientes para llegar al diagnóstico del

paciente, y es preciso realizar un examen morfológico o frotis de la sangre periférica

que, de forma cualitativa, nos permitirá obtener importantes conclusiones.

El estudio de la serie roja o eritograma es fundamental para la valoración y clasificación de las anemias.

Para la correcta interpretación del hemograma, es importante conocer, por un lado, el sistema hematotopoyético, que describiremos brevemente en este capítulo, especialmente la eritropoyesis. Y por otro, conocer la tecnología que aportan los diferentes analizadores hematológicos, así como la interpretación de las alarmas que aportan, tema que desarrollaremos en otro capítulo.

La muestra utilizada para la realización del hemograma es sangre total anticoagulada, siendo el anticoagulante de elección el EDTA tripotásico, como veremos en el capítulo 4.

2.1. Eritropoyesis

Se define a la hematopoyesis como el proceso a través del cual la médula ósea es capaz de producir las células de la sangre: leucocitos, eritrocitos y plaquetas.

La médula ósea presenta una enorme capacidad de producción, aproximadamente 10^{10} eritrocitos y entre 10^9 y 10^{10} leucocitos por hora en estado estacionario (2). En condiciones normales, los eritrocitos viven 120 días (3), los neutrófilos, los eosinófilos y basófilos de 8 a 10 horas, los monocitos de 16 a 18 horas y los linfocitos, según dependiendo de los subtipos, pueden vivir desde días a años, y las plaquetas de 9 a 10 días (4,5).

La hematopoyesis ocurre principalmente en el interior de los huesos planos y en los extremos de los huesos largos, ya que existe un microambiente que permite el anidamiento, crecimiento y diferenciación de las células hematopoyéticas hacia células maduras. En situaciones patológicas, que generalmente se asocian con anemia, como en el caso de mielofibrosis primaria, granulomas o talasemia mayor, la hematopoyesis puede ocurrir en el hígado, bazo y ganglios linfáticos (2).

Para desarrollarse y diferenciarse hacia células maduras, las células progenitoras hematopoyéticas requieren de los elementos celulares del estroma, formado por las células endoteliales vasculares y reticulares, y así poder salir a la circulación sanguínea.

Todas las células sanguíneas derivan de una célula común, llamada célula madre o *stemcell*, situada en la médula ósea. A través de un proceso de proliferación, maduración y diferenciación simultánea, da lugar a las células madre comprometidas que, a su vez, originan dos líneas. La linfoide, productora de linfocitos y la mieloide, productora de los eritrocitos, las plaquetas, los monocitos y los granulocitos. Posteriormente estas células abandonan la médula ósea para incorporarse a la sangre.

Las células progenitoras mieloides se diferencian hacia células progenitoras de megaciocitos y eritrocitos (MEP), que a su vez se diferencian hacia unidades formadoras de colonias (BFU-E, *burst forming units*) y CFU-E (*colony forming units*), las cuales a través de procesos de maduración y proliferación dan lugar a los eritrocitos maduros (proeritroblasto, eritroblasto basófilo, eritroblasto policromático, eritroblasto ortocromático y reticulocito).

El proeritroblasto es una célula de gran tamaño y elevada relación núcleo-citoplasma. El núcleo es de perfil redondeado, cromatina laxa e inmadura mientras que el citoplasma es intencionalmente basófilo. El eritroblasto basófilo presenta menor tamaño que el proeritroblasto y la cromatina más condensada, el citoplasma sigue conservando una intensa basofilia. El eritroblasto policromático presenta menor tamaño que sus precursores y menor basofilia en su citoplasma y la cromatina es madura y condensada. No se divide, sino que madura a eritroblasto ortocromático, el cual no ha perdido el núcleo y presenta un tamaño similar a un hematíe, su cromatina es densa y homogénea y su citoplasma es grisáceo. Cuando el eritroblasto orto-

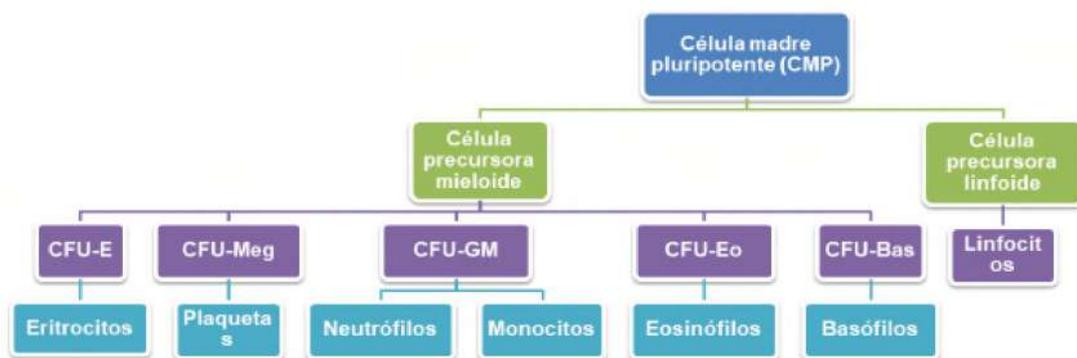


Figura 1. Hematopoyesis.

cromático pierde el núcleo, se convierte en reticulocito, el cual posee cierta cantidad de ARN en su citoplasma.

El proceso de maduración requiere de aproximadamente 5 días desde la fase proeritoblasto hasta la de reticulocito, los cuales pueden permanecer de 1 o 2 días en la médula ósea antes de abandonarla en forma de eritrocitos maduros. Los eritrocitos maduros una vez en la circulación tienen una vida media de 120 días, durante este tiempo ejercerán su función principal que es la del transporte de gases para asegurar la respiración tisular.



Figura 2. Eritropoyesis.

Este proceso es impulsado tanto por factores de transcripción como por factores de crecimiento hematopoyéticos, como la interleucina 3 (IL-3), el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) y el factor de células madre (SCF) y sus receptores.

La eritropoyetina (EPO) es la principal reguladora de la producción de eritrocitos, estimulando la amplificación y la diferenciación terminal de los precursores y progenitores eritroides. El gen que la codifica se localiza en el cromosoma 7 y es producida en el riñón y en una pequeña cantidad en el hígado en respuesta a la hipoxia debida a la anemia (5).

En la regulación de la eritropoyesis también intervienen los niveles de vitamina B₁₂ (cianocobalamina), ácido fólico y de hierro. La carencia de estos factores determina un incorrecto desarrollo de la eritropoyesis, bien porque se formen células anómalas (la carencia de vitamina B₁₂ o fólico da lugar a células megaloblásticas) o porque se forme un número insuficiente.

2.2. Parametros de la serie roja

El eritograma es una parte del hemograma que permite el estudio de los glóbulos rojos o eritrocitos y nos ofrece el

recuento, tanto cualitativo como cuantitativo, de los siguientes parámetros (6):

- Hematíes (RBC)
- Hemoglobina (Hb)
- Hematocrito (Hto)
- Índices eritrocitarios clásicos, parámetros calculados a partir los anteriores y descritos por Wintrobe en los años 30:
 - Volumen corpuscular medio (VCM).
 - Hemoglobina corpuscular media (HCM).
 - Concentración corpuscular media de hemoglobina (CCMH).
 - Amplitud de distribución de los eritrocitos (ADE).

El desarrollo de nuevas tecnologías ha permitido la incorporación de nuevos parámetros en los analizadores de hematología, como veremos a lo largo de este capítulo.

2.2.1. Parámetros estándar

Hematíes/RBC (red blood-cell count)

Los hematíes representan el componente más abundante de la sangre.

El recuento de eritrocitos consiste en determinar la cantidad de eritrocitos en sangre periférica por unidad de volumen (μL, milímetro cúbico (mm³) o litro (L) de acuerdo con el sistema de unidades adoptado por el laboratorio. Es uno de los parámetros que menor aplicación clínica tiene, pero es indispensable para el cálculo del volumen corpuscular medio (VCM), que es la base para la clasificación morfológica de las anemias según Wintrobe (7) y útil en la clasificación morfológica de las anemias según Bessmann (8), basada en el VCM y el ancho de distribución de los hematíes.

Hemoglobina (Hb)

A través de la hemoglobina, el hematíe realiza su función transportadora de oxígeno y de dióxido de carbono desde y hacia los pulmones, respectivamente.

La hemoglobina es una proteína formada por dos cadenas α y dos cadenas β, que portan cada una de ellos un átomo de hierro en el centro del anillo tetrapirrólico del grupo heme, cuya función es la unión al oxígeno para su transporte.

Es uno de los datos más importantes del hemograma que sirve para definir el estado de anemia y policitemia, desde un punto de vista clínico.

Hay que tener en cuenta que ciertas situaciones pueden modificar el volumen plasmático y, por tanto, el valor de la hemoglobina. El embarazo, la insuficiencia cardíaca, el mieloma múltiple o la macroglobulinemia pueden aumentar el volumen plasmático, dando lugar una falsa anemia por dilución. Mientras que la deshidratación o

la cetoacidosis, dan lugar a una disminución del volumen plasmático, enmascarando una anemia verdadera.

Los valores normales pueden variar en función del sexo, situación geográfica y la edad.

Hematocrito (HCT/HTO)

Representa la fracción de volumen eritrocitario y corresponde al volumen ocupado por los glóbulos rojos en relación con el volumen total de sangre. El hematocrito se expresa de acuerdo con la nomenclatura tradicional como un porcentaje, o preferiblemente, de acuerdo al Sistema Internacional (SI) de unidades recomendado por el ICSH (*International Council for Standardization in Haematology*), como una fracción decimal en donde la unidad (L/L) está implícita.

Se obtiene a partir de la siguiente fórmula:

Hematocrito = recuento de eritrocitos × volumen corpuscular medio / 10

Su valor no sólo depende del número de hematíes sino también de su forma y tamaño, lo que disminuye su utilidad clínica. De la misma manera que la hemoglobina, sus valores varían en función del sexo, la situación geográfica y la edad.

Índices eritrocitarios

Son útiles para diferenciar y clasificar las anemias. Son parámetros calculados a partir de los 3 parámetros anteriores:

- *Volumen corpuscular medio (VCM)*: Indica el promedio del volumen de cada eritrocito. Se calcula con la siguiente fórmula:

$$VCM = (HCT \times 10) / RBC$$

Se expresa en femtolitros (fL) y su valor debe coincidir con el pico del histograma propio de los hematíes, e informa sobre normocitosis, microcitosis o macrocitosis en esa muestra.

Cuando el VCM es menor de 80fL, se habla de anemia microcítica (anemia ferropénica, talasemias), cuando el VCM es normal, es una anemia normocítica mientras que el VCM es superior a 100fL, sería una anemia macrocítica (deficiencia de vitamina B12 y/o ácido fólico, hipotiroidismo, hepatopatía principalmente alcohólica, síndromes mielodisplásicos):

El VCM puede estar artefactado por diferentes situaciones, como es el aumento de reticulocitos en sangre periférica o la presencia de hematíes aglutinados, por lo que se debería realizar de un frotis de sangre periférica.

- *Concentración corpuscular media de hemoglobina (CCMH)*: representa el valor medio de hemoglobina de cada eritrocito. Se calcula con la siguiente fórmula:

$$CCMH = (Hb * 100) / HCT$$

Se expresa en g/dL.

Indica si los hematíes son normocrómicos (32-36 g/dL), hipocrómicos (< 32 g/dL) o hiperocrómicos (>36 g/dL).

- *Hemoglobina corpuscular media (HCM)*: Indica el peso medio de hemoglobina en el hematíe. Se calcula a partir de la siguiente fórmula:

$$HCM = (Hb * 10) / RBC$$

Se expresa en picogramos y guarda cierta correlación con el VCM. Indica si los hematíes son normocrómicos, hipocrómicos o hiperocrómico.

- *Amplitud de distribución eritrocitaria (ADE o RDW)*: Determina la dispersión del volumen de los eritrocitos. Un valor elevado indica la existencia de anisocitosis (presencia de hematíes de distintos tamaños en la sangre de un mismo paciente). Puede ser útil para distinguir una deficiencia de hierro (ADE elevado) de un rasgo talasémico (ADE normal), aunque hay que tener en cuenta que se pueden encontrar talasemias que presentan un ADE elevado.

2.2.2. Nuevos parámetros de la serie roja

Reticulocitos (RET)

En general, los analizadores no ofrecen este dato de manera sistemática, sino que hay que activar el analizador para ese fin.

Los reticulocitos son eritrocitos jóvenes que conservan en su citoplasma restos de ácido ribonucleico, ribosomas y mitocondrias que pueden ser identificados mediante diferentes colorantes (6). Los reticulocitos permanecen de dos a tres días en la médula ósea y de 24 a 48 horas en sangre periférica donde se completa su hemoglobinización y se transforman en células maduras.

Además, como el recuento porcentual de reticulocitos sólo establece la proporción entre los eritrocitos maduros y los recién nacidos, es necesario ajustar el porcentaje con relación al grado de la anemia, ya sea por la hemoglobina o por el hematocrito, y para lograrlo se aplica una de las siguientes fórmulas (9).

El recuento de reticulocitos permite evaluar la actividad eritropoyética de la médula ósea y permiten clasificar las anemias en regenerativas (aumento de reticulocitos) o en arregenerativas (número de reticulocitos bajos). También permite evaluar la capacidad de respuesta de la médula ósea tras radioterapia o quimioterapia antineoplásica.

Además, la incorporación de nuevas tecnologías en los contadores hematológicos en el análisis de reticulocitos ha permitido el recuento de sus índices celulares, como el volumen o el contenido de hemoglobina de manera exacta y precisa.

Fracción de reticulocitos inmaduros (IRF)

Los reticulocitos se pueden dividir en subpoblaciones, dependiendo de la cantidad de distribución del retículo en su citoplasma. El grado de maduración de las subpoblaciones de reticulocitos se correspondería con la intensi-

dad de la tinción: los reticulocitos más jóvenes o inmaduros presentan una tinción elevada mientras que los más maduros cercanos al eritrocito presentan menor tinción (10).

Después del tratamiento de una anemia carencial (déficit de hierro, folato, vitamina B₁₂), se observa un incremento precoz de IRF previo al aumento del número total de reticulocitos.

Hemoglobina reticulocitaria

La hemoglobina reticulocitaria, conocida como CHr (del inglés, *Reticulocyte Hemoglobin Content*) es un nuevo parámetro incluido en los últimos analizadores hematológicos, exclusivo de los analizadores Advia® 120 y Advia® 2120 de la compañía Siemens (Erlangen, Alemania) y de los modelos XE y XN de la compañía Sysmex (Kobe, Japón) (11), que determina la hemoglobina contenida en los reticulocitos en picogramos como unidad de peso, lo que permite estimar la calidad de la eritropoyesis y, por tanto, el suministro actual de hierro. La hemoglobina reticulocitaria es un marcador en tiempo real sobre la eritropoyesis en la médula ósea (12) y un marcador precoz capaz de detectar el déficit de hierro disponible para eritropoyesis de manera efectiva. El rango de referencia es de aproximadamente 28-35 pg, se considera déficit de hierro por debajo de 28 pg.

Este parámetro se recomienda en las guías clínicas de Nefrología para monitorizar la terapia con hierro IV. Si aumenta el valor indica que la terapia está teniendo un efecto positivo (13-15).

A diferencia de la ferritina (reactante de fase aguda), no se ve afectada por la inflamación, por lo que resulta un parámetro fiable y de especial utilidad para valorar la eritropoyesis en estos pacientes (16,17).

También beneficiará a los pacientes con ferropenia en su fase subclínica, al evidenciar un balance férrico negativo si el valor de Hb reticulocitaria es menor de 28 pg, aunque Hb e índices eritrocitarios permanezcan en sus valores de referencia y como prueba en la detección y el manejo de la ferropenia en la población general, especialmente a grupos con especial riesgo de padecer ferropenia (18,19).

Subpoblaciones eritrocitarias (no todos los equipos ofrecen este dato)

Los porcentajes de las subpoblaciones eritrocitarias permiten evaluar con mayor precisión el estado férrico y eritropoyético en las semanas previas al análisis que las medias poblacionales del VCM y del CHM. Los porcentajes de las subpoblaciones eritrocitarias resultan de especial utilidad en situaciones clínicas habituales como son el déficit funcional de hierro y anemia ligada a procesos crónicos, el diagnóstico diferencial de anemia microcítica y la anemia hemolítica.

Los biomarcadores de hipocromía proporcionan información complementaria sobre la eritropoyesis deficiente en hierro en situaciones clínicas complejas y proveen información sobre la deficiencia absoluta y funcional de hierro (20).

Eritroblastos

Los eritroblastos son glóbulos rojos nucleados (NRBC), tienen un tamaño y un núcleo similar al de los linfocitos, por lo que los analizadores más modernos ofrecen automáticamente la corrección en el número de leucocitos y linfocitos. La tecnología usada dependerá de cada casa comercial.

La presencia de los eritroblastos en sangre periférica se produce cuando hay un aumento en la actividad eritropoyética, como en crisis hemolíticas agudas, estrés severo hipóxico y en muchas leucemias y síndromes mielodisplásicos.

2.3. Resumen

La sangre está compuesta de plasma y elementos celulares. El hemograma analiza cualitativa y cuantitativamente a estas células sanguíneas.

En las últimas décadas, el hemograma ha evolucionado con múltiples modificaciones en cuanto a los parámetros que lo componen, la tecnología aplicada para obtenerlos, su calidad analítica, y la manera de interpretarlo.

Es importante valorar los datos obtenidos en el hemograma en conjunto con la historia clínica y la exploración física del paciente.

En ocasiones, no son suficientes los datos obtenidos en el hemograma y es necesario realizar un examen morfológico de sangre periférica, para llegar a un diagnóstico.

En resumen, el hemograma junto con los parámetros bioquímicos se ha convertido en una herramienta poderosa en la orientación diagnóstica, pronóstica y terapéutica de las anemias, en especial de la anemia ferropénica y de otras patologías hematológicas, de manera rápida, precisa y relativamente barata.

2.4. Bibliografía

1. Panizo C, Lecumberri R, Rodríguez P, coordinadores. Interpretación básica de las pruebas de laboratorio de Hematología. Madrid: Acción Médica Grupo; 2009.
2. Sieff CA. Overview of hematopoietic stem cells [Monografía en Internet]. Wolters Kluwer: UpToDate; 2020 [acceso 22 de abril de 2020]. Disponible en: <http://www.uptodate.com>.
3. Eadie GS, Brown IW, Jr. Red blood cell survival studies. *Blood* 1953; 8: 1110-36.
4. Bautista AP, Buckler PW, Towler HM, Dawson AA, Bennett B. Measurement of platelet life-span in normal subjects and patients with myeloproliferative disease with indium oxine labelled platelets. *Br J Haematol* 1984; 58:679-87.
5. Sieff CA. Regulation of erythropoiesis. [Monografía en Internet]. Wolters Kluwer: UpToDate; 2010 [acceso 22 de abril de 2020]. Disponible en: <http://www.uptodate.com>.

6. George TI. Automated hematology instrumentation [Monografía en Internet]. Wolters Kluwer: UpToDate; 2020 [acceso 20 de setiembre de 2020]. Disponible en: <http://www.uptodate.com>.
7. Wintrobe MM. Anemia: Classification and treatment on the basis of differences in the average volume and hemoglobin content of the red corpuscles. *Arch Intern Med* 1934; 54:256-61.
8. Bessman JD, Gilmer PR, Jr., Gardner FH. Improved classification of anemias by MCV and RDW. *Am J clin Pathol* 1983; 80: 322-26.
9. Brodsky RA. Diagnosis of hemolytic anemia in adults. [Monografía en Internet]. Wolters Kluwer: UpToDate; 2020 [acceso 12 de octubre de 2020]. Disponible en: <http://www.uptodate.com>.
10. Inoue H. Overview of automated hematology analyzer XE-2100. *Sysmex J Int* 1999; 9: 58-64.
11. Campuzano-Mayo G, Guevara-Arismendy NM. Hemoglobina reticulocitaria: un nuevo parámetro del hemograma de gran valor en el diagnóstico y manejo de la eritropoyesis deficiente en hierro. *Medicina & Laboratorio* 2015;21:11-42
12. Torino AB, Gilberti M de F, da Costa E, de Lima GA, Grotto HZ. Evaluation of red cell and reticulocyte parameters as indicative of iron deficiency in patients with anemia of chronic disease. *Rev Bras Hematol Hemoter.* 2014;36(6):424-9.
13. Locatelli F, Aljama P, Barany P, Canaud B, Carrera F, Eckardt KU, et al. European Best Practice Guidelines Working Group. Revised European best practice guidelines for the management of anaemia in patients with chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant.* 2004; 19 (suppl 2): ii1-ii47.
14. Brugnara C, Laufer MR, Friedman AJ, Bridges K, Platt O. Reticulocyte hemoglobin content (cHr): early indicator of iron deficiency and response to therapy. *Blood* 1994; 83:3100-1.
15. Garzia M, Di Mario A, Ferraro E, Tazza I, Rossi E, Luciani G, et al. Reticulocyte hemoglobin equivalent: an indicator of reduced Iron availability in chronic kidney diseases during erythropoietin therapy. *Lab Hematol* 2007;13: 6-11.
16. Canals C, Remacha AF, Sardá MP, Piazuelo JM, Royo MT, Romero MA. Clinical utility of the new Sysmex XE 2100 parameter - reticulocyte hemoglobin equivalent - in the diagnosis of anemia. *Haematologica.* 2005;90(8):1133-34.
17. Brugnara C, Schiller B, Moran J. Reticulocyte hemoglobin equivalent (Ret He) and assessment of iron-deficient states. *Clin Lab Haematol.* 2006;28(5):303-8.
18. Ullrich C, Wu A, Armsby C, Rieber S, Wingerter S, Brugnara C, et al. Screening healthy infants for iron deficiency using reticulocyte hemoglobin content. *JAMA.* 2005;294(8):924-30.
19. Semmelrock MJ, Raggam RB, Amrein K, Avian A, Schallmoser K, Lanzer H, et al. Reticulocyte hemoglobin content allows early and reliable detection of functional iron deficiency in blood donors. *Clin Chim Acta.* 2012;413(7-8):678-82.
20. Urrechaga E, Borque L, Escanero JF. Biomarkers of hypochromia: the contemporary assessment of iron status and erythropoiesis. *Biomed Res Int.* 2013:603786.

3. ANALIZADORES HEMATOLÓGICOS

El hemograma o recuento de células sanguíneas es una de las pruebas más solicitadas al laboratorio clínico, que aporta información de la homeostasis del sistema hematópoyético de un individuo.

Cabe resaltar que es esencial la integración de estos datos con el examen físico del paciente y su historia clínica.

El objetivo de este capítulo es actualizar los conocimientos sobre los analizadores hematológicos, a partir de los cuales se obtiene el hemograma.

3.1. Inicio de la automatización

La historia de la automatización de los laboratorios clínicos comenzó en los primeros años de la década de los 50, para dar solución al aumento de la carga de trabajo, unida a la escasez de personal cualificado, que tuvieron que afrontar los laboratorios. Las causas del tal aumento fueron el aumento de la población tras la Segunda Guerra Mundial, las nuevas tecnologías de la era espacial, la construcción de hospitales de más de 1000 camas y la disposición de un mayor de pruebas diagnósticas.

La hematología, como una de las principales líneas de trabajo del laboratorio clínico, no permaneció ajena al desarrollo de la automatización e incrementó sus potenciales diagnósticos con el surgimiento y perfeccionamiento de los contadores o analizadores hematológicos.

Las primeras reseñas sobre conteo de células hemáticas datan del año 1794, cuando se realizó la primera descripción precisa de los glóbulos rojos usando un dispositivo de lentes rudimentarias. Más tarde, en el siglo XIX, se pudieron observar las plaquetas y diferenciar subpoblaciones leucocitarias mediante la tinción con anilinas.

El primer método para el recuento electrónico de células sanguíneas fue desarrollado por Moldavan en 1934, que se basaba en la detección fotoeléctrica de la luz dispersada.

Pero no es hasta 1953, ante el aumento de la carga de trabajo, la escasez de personal cualificado y la necesidad de ofrecer un recuento celular más fiable y rápido, cuando Wallace Coulter patentó el principio Coulter, que permitió el conteo rápido y preciso de células sanguíneas en el laboratorio clínico, que condujo al desarrollo del primer contador automatizado, el Coulter modelo A en 1956 (1).

Estos primeros contadores celulares, sólo eran capaces de realizar el recuento global de eritrocitos y, en menor

medida, de leucocitos. Pero la robotización, el desarrollo de programas informáticos y nuevos métodos de detección han aumentado el potencial de estos equipos.

En la actualidad, existen una gran diversidad de modelos, pero todos tienen un diseño mecánico y electrónico similar.

Los componentes básicos de un contador hematológico son los siguientes y quedan representados en la Figura 1 (2):

- Diluidor: sistema que reduce la concentración de las células sanguíneas y las suspende en soluciones conductoras isotónicas para adecuarla a las capacidades de medida del dispositivo.
- Aspirador: sistema que toma la muestra diluida y la conduce hacia el dispositivo de medida.
- Sistema de fluidos: transporta las suspensiones celulares hacia la cámara de recuento.
- Transductor o detector: son los dispositivos que generan pulsos eléctricos cuando las células pasan por la cámara de recuento.
- Discriminador: discrimina los pulsos eléctricos generados por los transductores en correspondencia con el tipo celular medido.
- Amplificador: amplifica la señal eléctrica que sale del discriminador para su posterior procesamiento.
- Convertidor analógico-digital: convierte las señales eléctricas en digitales.
- Ordenador: procesa las señales digitales y las convierte en datos que serán mostrados en pantalla y que pueden ser impresos.

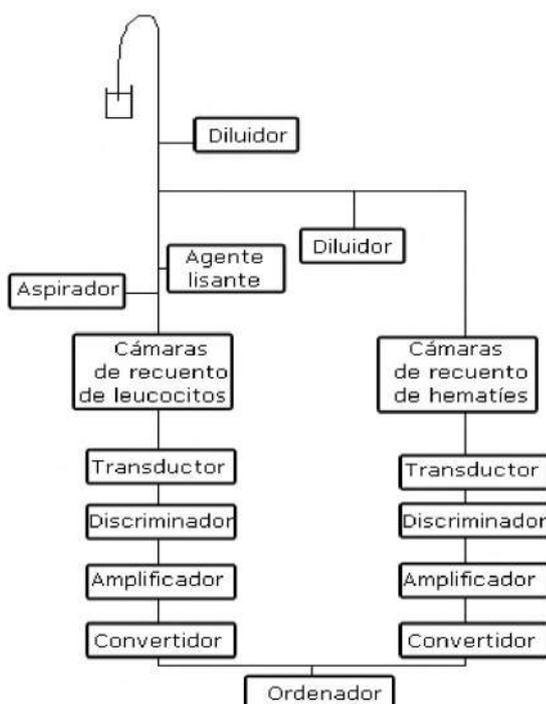


Figura 1. Componentes principales de un contador hematológico. Tomado y modificado de: González de Buitrago JM. Tecnología y métodos de laboratorio clínico. 3a ed. Barcelona: Elsevier Masson; 2010.

La parte electrónica del equipo está compuesta por el amplificador, el convertidor y el ordenador.

3.2. Principios generales de detección utilizados por los contadores hematológicos

3.2.1. Medida de la variación de impedancia o resistencia eléctrica (Principio Coulter)

El Principio Coulter de la Impedancia, cuenta y dimensiona las células por medio de la medición del cambio de resistividad en un campo eléctrico (Figura 2).

Esto sucede cuando las células suspendidas en un líquido conductor, pasan a través de una apertura, en la que se aplica una corriente eléctrica.

Para ello, la sangre total es aspirada, diluida y distribuida en dos canales diferentes. El recuento de hematías y plaquetas se efectúa en una cámara diferente a la de leucocitos y hemoglobina, cada una de ellas tiene aperturas independientes.

Al paso por la mencionada apertura, las células actúan como un aislante, de manera que producen un aumento de la resistencia (disminución del voltaje) entre ambos electrodos. Esto provoca un impulso eléctrico que se puede medir y cuyo valor es proporcional al volumen o tamaño de la célula.

Así, el número de pulsos detectados durante la medición es el número de partículas medidas, y la amplitud del pulso es proporcional al volumen de la partícula (3).

Dentro de las ventajas de esta tecnología, se encuentra su sencillez, bajo coste, su reproducibilidad y rapidez.

En la actualidad, es el método de referencia para el recuento de hematías y la medición de los volúmenes (tamaño) de cada población celular.

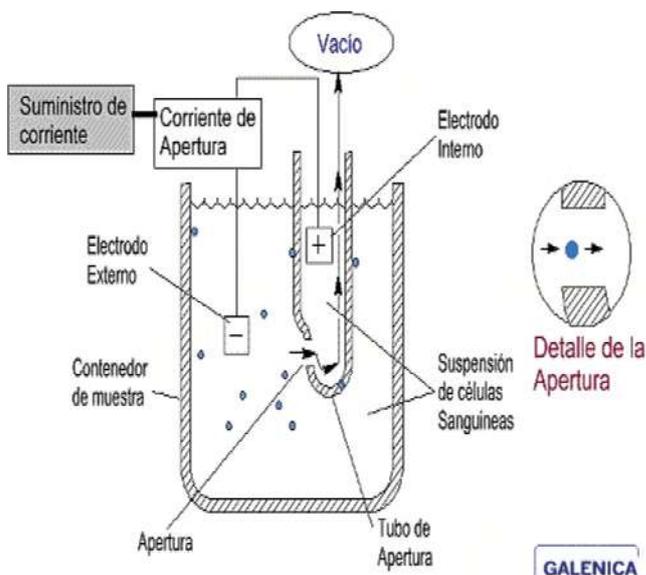


Figura 2. Principio de Impedancia. Tomado de: González de Buitrago JM. Tecnología y métodos de laboratorio clínico. 3a ed. Barcelona: Elsevier Masson; 2010.

3.2.2. Medición de la dispersión óptica (método óptico). Citometría de flujo

Las células en suspensión se hacen pasar, una detrás de otra, a través de una pequeña zona sobre la que incide perpendicularmente un haz de luz halógena o láser.

La dispersión de luz originada, al pasar las células por la zona sensible permite llevar a cabo el recuento de las mismas. Al mismo tiempo, otro haz transversal analizará el contenido celular y la refringencia que ocasiona, es decir, su complejidad, diferenciando así el tipo de célula que está atravesando el sistema.

La principal aplicación del método de dispersión de luz es la realización automática del recuento diferencial de leucocitos y el estudio de la composición interna de las células, aunque también se aplica para el recuento celular global y medición de volúmenes celulares.

En los últimos años, el desarrollo de los anticuerpos monoclonales con el perfeccionamiento de los citómetros de flujo, ha permitido el uso de esta tecnología en el diagnóstico clínico.

En la citometría de flujo, las células en suspensión se hacen pasar alineadamente una a una, por delante de un haz de luz láser monocromático, lo que causa su dispersión en diversos ángulos y la emisión de luz fluorescente, previo marcaje de las estructuras celulares con anticuerpos monoclonales marcados con fluorocromos.

Cuando una célula pasa por el punto de detección y el haz luminoso procedente del láser impacta con ella, la célula dispersa la luz en todas las direcciones. La parte de luz que se dispersa en la dirección del haz de luz incidente, "forward

scatter" (FSC), que podría traducirse como dispersión delantera o dispersión de avance. La magnitud de esa dispersión constituye la primera medida importante en la citometría, ya que es aproximadamente proporcional al tamaño de la célula. Por lo tanto, este dato se puede utilizar para saber cómo de grandes son las células que estamos analizando y si hay varias poblaciones de diferentes tamaños en nuestra muestra.

La complejidad de la célula analizada provoca la dispersión de la luz hacia los lados. Esta complejidad celular viene determinada entre otras cosas por la presencia en la célula de estructuras específicas o de un gran número de orgánulos. La luz procedente de este tipo de dispersión es recogida por otro detector específico, normalmente situado en un ángulo de 90 grados con respecto a la dirección de la luz del láser incidente. Por este motivo, se denomina a esta señal "side scatter" (SCC), que puede traducirse como dispersión lateral. El "side scatter" da una idea de la variedad de células existentes en una población (Figura 3).

Además de la luz dispersada, los citómetros son capaces de detectar y analizar la luz fluorescente emitida por las propias células. Esto permite expandir el espectro de posibles análisis que pueden realizarse mediante citometría de flujo. Las células pueden ser marcadas específicamente con anticuerpos conjugados con moléculas fluorescentes, permitiendo que sólo las células que exhiban cierto marcador queden marcadas. Esta fluorescencia emitida es recogida en la misma dirección que el "side scatter" (3,4,5).

Gracias a su elevada especificidad, mediante la citometría de flujo se pueden estudiar varias poblaciones celulares diferentes y detectar la presencia de una subpoblación. Así una de sus principales aplicaciones, es el recuento e iden-

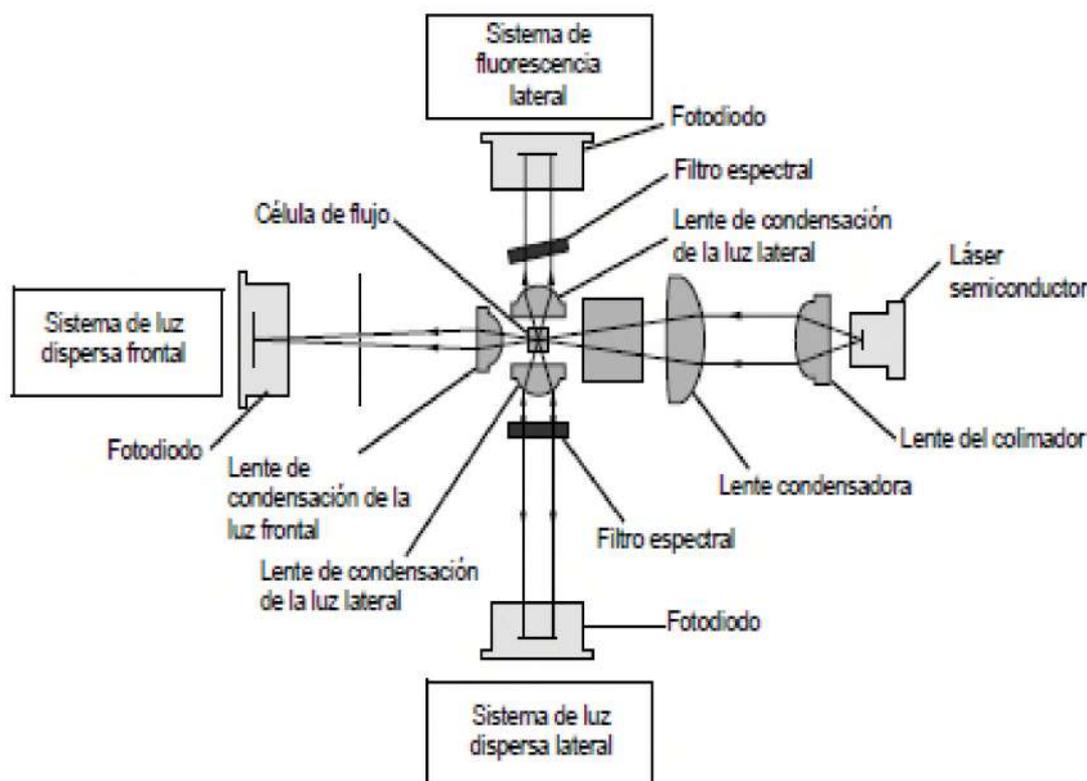


Figura 3. Esquema de funcionamiento de un citómetro de flujo. Tomado de: Manual XN-550 Sysmex.

tificación de subpoblaciones linfocitarias (inmunofenotipo), estudios de función plaquetaria, determinación de reticulocitos inmaduros y caracterización de las leucemias agudas y síndromes mieloproliferativos, entre otras.

3.2.3. Determinación de la hemoglobina

La hemoglobina, una vez lisados los hematíes, es determinada por colorimetría.

En el pasado, el método habitual para la determinación de hemoglobina era el de la cianometahemoglobina, que determina además otras formas de hemoglobina como la oxihemoglobina y la carboxihemoglobina.

Este método fue recomendado como referencia por el *Consejo Internacional de Normalización en Hematología* (ICSH) en 1966. Sin embargo, la conversión de hemoglobina a cianometahemoglobina era lenta, lo que resultaba un inconveniente para el análisis automatizado. Además, al utilizar compuestos de cianuro que son reactivos tóxicos, requería tratar los desechos líquidos.

En el método de la metahemoglobina, la muestra y el reactivo de hemoglobina, se mezclan en la cámara de reacción de hemoglobina (colorimetría). Este reactivo, por un lado, provoca la lisis de los hematíes para liberar la hemoglobina y, por otro lado, se combina con la hemoglobina para formar un compuesto de metahemoglobina, estable y libre de cianuro y que es medido por absorbancia a 525 nm.

En el método del laurilsulfato sódico, o SLS, la sal de sodio de lauril sulfato provoca la lisis de los hematíes, liberándose la hemoglobina, que es medida también por espectrofotometría. Los derivados de la hemoglobina (oxihemoglobina, deoxihemoglobina, carboxihemoglobina y metahemoglobina) se transforman de forma instantánea en sodio del laurilsulfato-Hb (3).

3.3. Análisis digital de la imagen. Resultados

Como hemos visto hasta ahora, los distintos fabricantes emplean distintas metodologías en sus modelos de analizador, como la impedancia, la radiofrecuencia, el láser o la citoquímica.

Beckman Coulter utiliza la tecnología VCS (volumen, conductividad y scatter) en sus analizadores. Mediante impedancia de baja frecuencia se determina el volumen de la célula. La conductividad de alta frecuencia de radiofrecuencia (RF) determina la conductividad interna de la célula. La dispersión de luz o scatter de luz láser indica la estructura y la forma de la célula.

Con los datos recopilados, y haciendo uso de los sistemas informáticos que tienen incorporados, el analizador está en disposición de ofrecer además datos numéricos con gran exactitud y reproducibilidad, y proporcionar además información adicional en forma de representación gráfica (histogramas, citogramas o *scattergramas*).

Los histogramas representan curvas construidas sobre un eje de coordenadas, donde el eje de ordenadas recoge el número de células contadas y el de abscisas, su volumen.

Así, la altura de la curva correspondería con el valor medio del parámetro representado en el mismo. En general, este tipo de representación se utiliza para parámetros de la serie roja (hemoglobina e índices eritrocitarios) y también plaquetarios. La proyección sobre el eje de abscisas del pico de la curva correspondería al valor del VCM y la abertura de la base indica la ADE o RDW.

En la figura 4 se observa un histograma de eritrocitos de un paciente normal realizado en el analizador *Sysmex*® XE-2100, donde los eritrocitos presentan una distribución en forma de campana, mientras que en la figura 5 se observa un paciente con microcitosis, en el que la altura del pico se ha desplazado hacia la izquierda, indicando un VCM menor y en la figura 6 se observa un paciente con macrocitosis en el cual la altura del pico se ha desplazado a la derecha, indicando un VCM mayor.

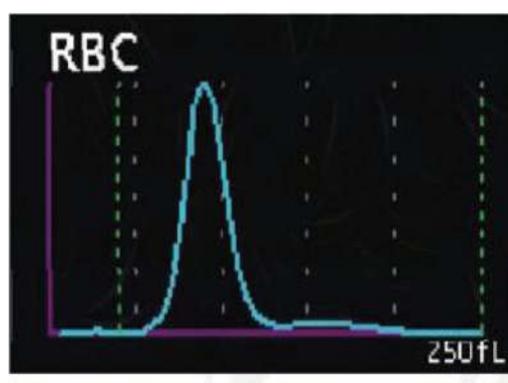


Figura 4. Histograma de eritrocitos de un paciente normal.

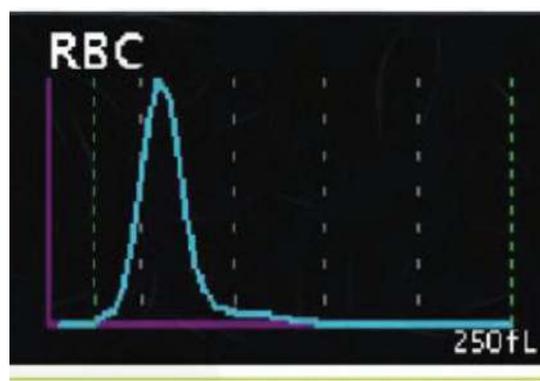


Figura 5. Histograma de eritrocitos de un paciente con microcitosis.

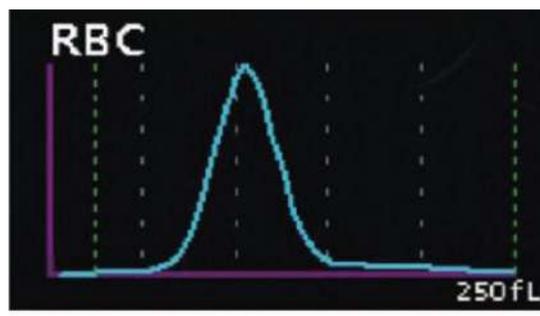


Figura 6. Histograma de eritrocitos de un paciente con macrocitosis. Tomado de: Campuzano Maya G. *La clínica y el Laboratorio. Del hemograma manual al hemograma de cuarta generación.* Medicina Laboratorio 2007; 133: 511-50.

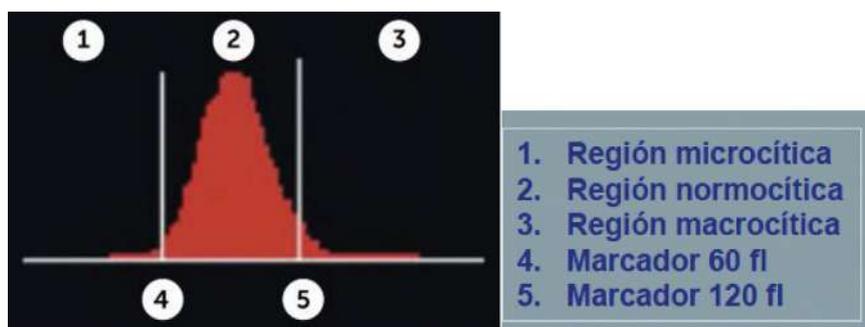


Figura 7. Histograma de volumen eritrocitario. Tomado de: Siemens® Atlas Hematología ADVIA 120/2120/2120i.

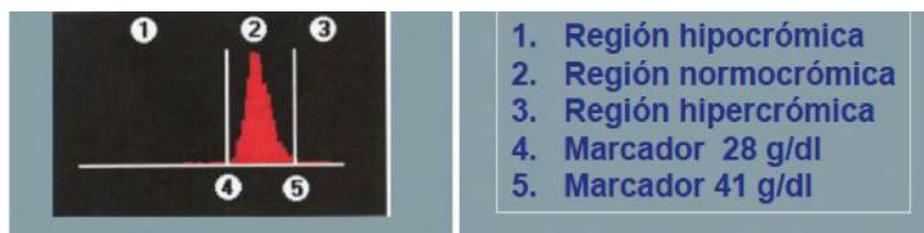


Figura 8. Histograma de HCM. Tomado de: Siemens® Atlas Hematología ADVIA 120/2120/2120i.

Tabla 1. Resumen tecnología usada de los parámetros estándar eritrocitarios.

	Siemens	Sysmex	BeckmanCoulter	Abbott
Eritrocitos ($\times 10^9/L$)	Impedancia	Impedancia	Impedancia	Impedancia/Láser
Hemoglobina (g/dL)	Espectrofotometría	Espectrofotometría	Espectrofotometría	Espectrofotometría
Hematocrito (%)	Calculado	Altura de pulsos	Calculado	Calculado
VCM (fL)	Láser	Calculado	Impedancia	Impedancia/Láser
HCM (pg)	Calculado	Calculado	Calculado	Calculado
CHCM (g/dL)	Calculado	Calculado	Calculado	Calculado
RDW (fL)	Láser	Calculado	Impedancia	Impedancia/Láser

En la figura 7, se puede observar el histograma de volumen eritrocitario que aportan los analizadores hematológicos de Siemens® (Advia120/2120/2120i).

En la figura 8, se puede observar el histograma de la concentración de la hemoglobina corpuscular media que aportan los analizadores hematológicos de Siemens® (Advia120/2120/2120i).

En la tabla 1 se resume la tecnología usada por las diferentes compañías para el recuento de los parámetros estándar eritrocitarios (3).

El recuento de plaquetas se puede realizar por impedancia, por dispersión óptica o por métodos inmunológicos. Por impedancia, las plaquetas presentan un volumen entre 2 y 30 fL. El recuento por dispersión óptica mejora la exactitud cuando el recuento plaquetar es bajo. En la figura 9, se puede visualizar el histograma de plaquetas de un paciente normal (izquierda) y, de un paciente con trombocitopenia severa (derecha). En la gráfica superior mediante tecnología de impedancia y en la gráfica inferior mediante tecnología de dispersión óptica en un analizador Sysmex® XE-2100.

Los citogramas o *scattergramas* son representaciones gráficas de las diferentes poblaciones celulares sanguíneas, en relación tanto a su número como a sus características fisicoquímicas. Así, las células con características similares son representadas como una nube de puntos en una zona específica de la gráfica, lo que permite identificar los distintos subtipos celulares.

Para el recuento de reticulocitos, las diferentes casas comerciales usan diferentes colorantes de RNA, como el nuevo azul de metileno, el naranja de tiazol, la polimetina o la oxazine 750, que se pueden detectar por fotometría o fluorescencia.

La tabla 2 resume los métodos de medida y los colorantes utilizados para el recuento de reticulocitos por cada fabricante (3).

En la figura 10, se puede observar el citograma de reticulocitos en un paciente normal por fluorescencia en un analizador Sysmex® XE-2100. La figura 11 muestra un paciente con valores bajos de reticulocitos y en la figura 12 un paciente con valores altos.

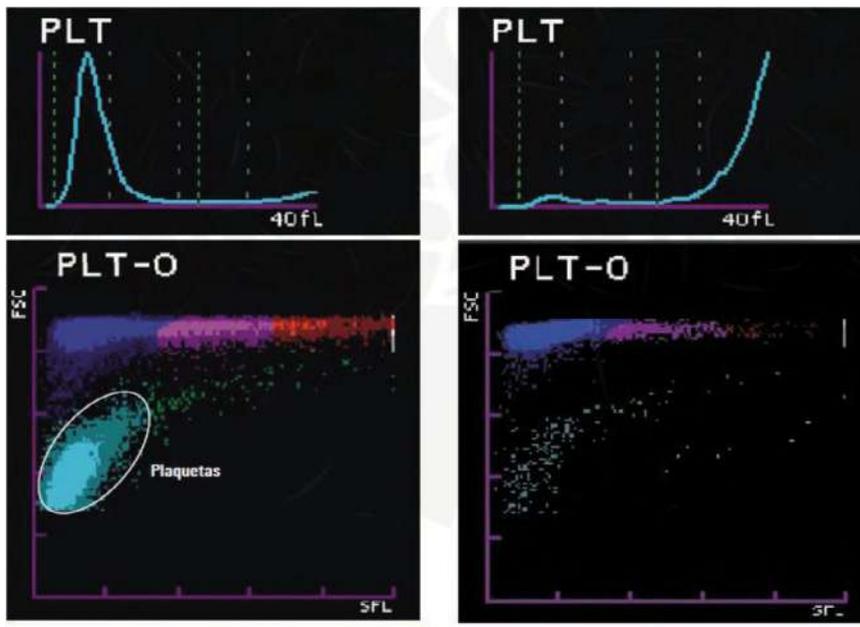


Figura 9. Histograma de plaquetas de un paciente normal (izqda.) y de un paciente con trombocitopenia severa (drcha). Tomado de: Tomado de: Campuzano Maya G. La clínica y el Laboratorio. Del hemograma manual al hemograma de cuarta generación. Medicina& Laboratorio 2007; 133: 511-50.

Tabla 2. Resumen de métodos y colorantes para recuento de reticulocitos.

Compañía	Colorante	Método
Siemens	Oxazine 750	Absorbancia/Scatter
Sysmex	Polimetina	Fluorescencia
Beckman Coulter	Nuevo azul metileno	Impedancia/Citometría VCS
Abbott	Nuevo azul metileno	Fluorescencia

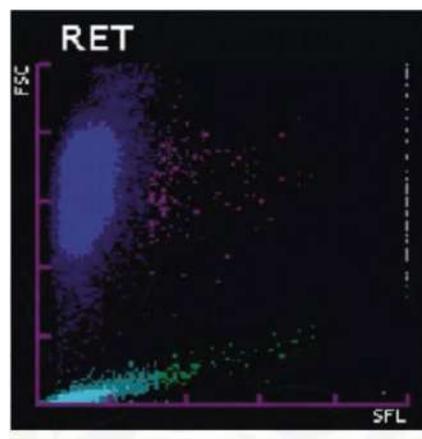


Figura 11. Recuento de reticulocitos en un paciente con valores bajos. Sysmex® XE-2100. Tomado de: Campuzano Maya G. La clínica y el Laboratorio. Del hemograma manual al hemograma de cuarta generación. Medicina& Laboratorio 2007; 133: 511-50.

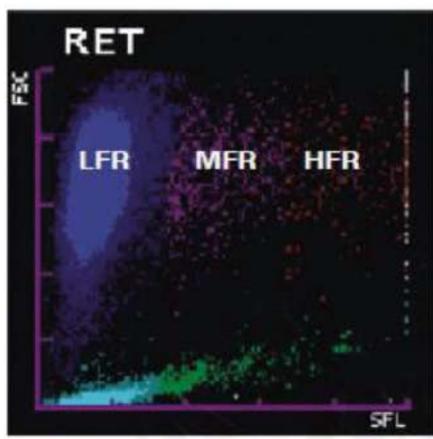


Figura 10. Citograma de reticulocitos en un paciente con valores normales. LFR: Fracción de reticulocitos de baja fluorescencia; MFR: fracción de reticulocitos de media fluorescencia; HFR: fracción de reticulocitos de alta fluorescencia. Sysmex® XE-2100. Tomado de: Campuzano Maya G. La clínica y el Laboratorio. Del hemograma manual al hemograma de cuarta generación. Medicina& Laboratorio 2007; 133: 511-50.

En los analizadores Sysmex, mediante un cálculo matemático, el tamaño celular se transforma en contenido de Hb; RBC He es el contenido de Hb de los eritrocitos, mientras que RetHe (Hb reticulocitaria equivalente) es el contenido de Hb de los reticulocitos.

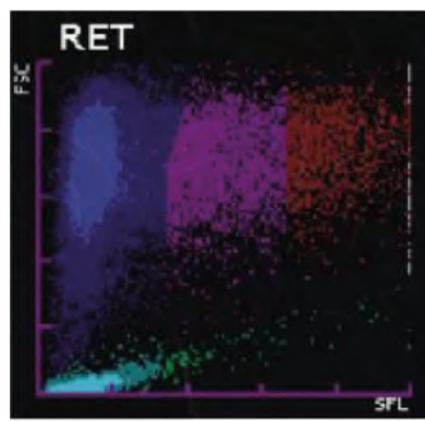


Figura 12. Recuento de reticulocitos en un paciente con valores altos. Sysmex® XE-2100. Tomado de: Campuzano Maya G. La clínica y el Laboratorio. Del hemograma manual al hemograma de cuarta generación. Medicina& Laboratorio 2007; 133: 511-50

En los analizadores de la empresa proveedora *Siemens*, la hemoglobina reticulocitaria se obtiene el volumen corpuscular medio de reticulocitos (VCMr) en fL y concentración de hemoglobina corpuscular media de reticulocitos (cHCMr) en g/dl, que se miden por separado de VCM y CHCM de eritrocitos maduros. El contenido de la hemoglobina de reticulocitos (CHR) se calcula a partir del producto del volumen y de la concentración de hemoglobina de cada célula.

Siemens también aporta información sobre las subpoblaciones eritrocitarias, teniendo en cuenta la concentración de hemoglobina y el volumen de cada célula, se pueden calcular los porcentajes de las subpoblaciones eritrocitarias que se encuentran en cada zona del citograma (Figura 13) (6):

- Hipocromos RBC con cHc < 280 g/L (%Hypo)
- Hiper Cromos RBC, cHc > 410 g/L (%Hyper)
- Macroцитos con volumen > 120 fL (%Macro)
- Microцитos con volumen < 60 fL (%Micro)

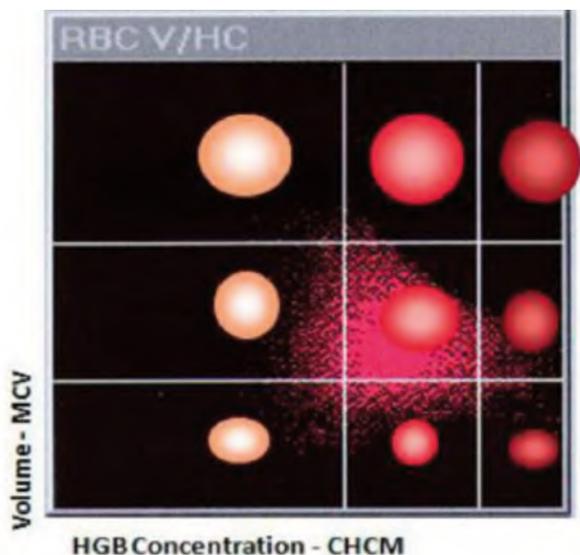


Figura 13. Citograma de subpoblaciones eritrocitarias en el mapa de Mie. Tomado de: Manual del Operador Advia 120.

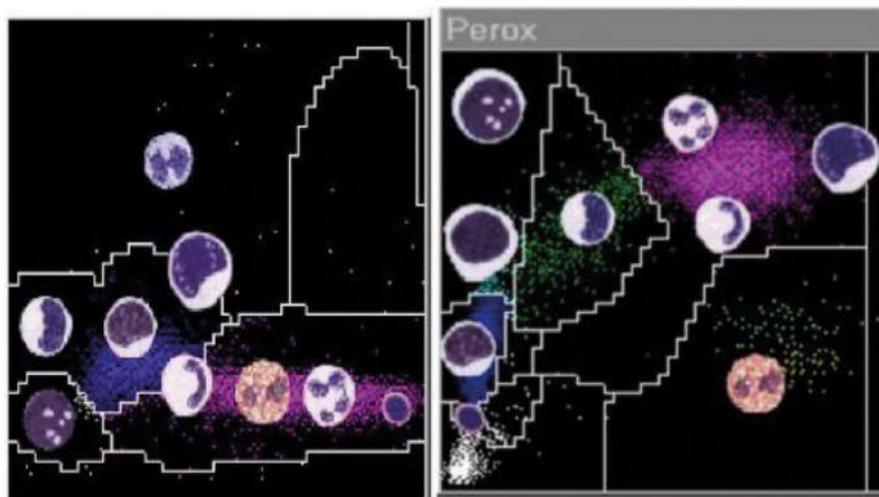


Figura 14. Diagramas de dispersión de los canales de basófilos y peroxidasa del analizador Advia (*Siemens*). Los eritroblastos aparecen en el canal de peroxidasa en la zona de tinción negativa. Tomado de: Manual del operador Advia 120.

Tabla 3. Resumen de los nuevos parámetros eritrocitarios.

Parámetro	Abreviatura (unidades)	Compañía
RBC Hipocromos	Hypo (%)	Siemens
Hb Reticulocitaria	CHR (pg)	Siemens
RBC Hipocromos	Hypo He (%)	Sysmex
Hb Reticulocitaria equivalente	Ret He (pg)	Sysmex
RBC hipocromos	%HPO (%)	Abbott
Hb Reticulocitaria media	MCHR (pg)	Abbott

El fabricante *Sysmex*, en sus últimos modelos de analizadores, también proveen información de las subpoblaciones eritrocitarias, que corresponden a %HypoHe (hipocromos), %Hyper (hipercromos), %MacroR (macroцитos) y %MicroR (microцитos). RBC hipocromicos definidos por *Sysmex* son aquellos con un contenido de Hb < 17 pg, mientras que hiper Cromos son aquellos con Hb > 49 pg (6).

La tabla 3 resume los nuevos parámetros eritrocitarios que aportan las diferentes compañías (6):

Para el recuento de eritroblastos, los analizadores del fabricante *Siemens* utilizan los canales de basófilos y peroxidasa para el recuento de leucocitos. En el canal de peroxidasa, los eritroblastos aparecen en la zona de tinción negativa (panel derecho Figura) mientras que en el canal de basófilos aparecen en la zona de neutrófilos y eosinófilos. El número de eritroblastos se calcula por la diferencia entre las señales de la zona del canal de basófilos y la suma de neutrófilos y basófilos del canal peroxidasa (7,8).

Mientras que los analizadores *Sysmex* utilizan la citometría de flujo con luz láser roja y colorante polimentifluorescente para el recuento de eritroblastos en el canal WNR (9).

La mayoría de los analizadores utilizan para el recuento diferencial leucocitario diferentes tecnologías, como la impedancia (DC), la radiofrecuencia (RF), la dispersión de luz,

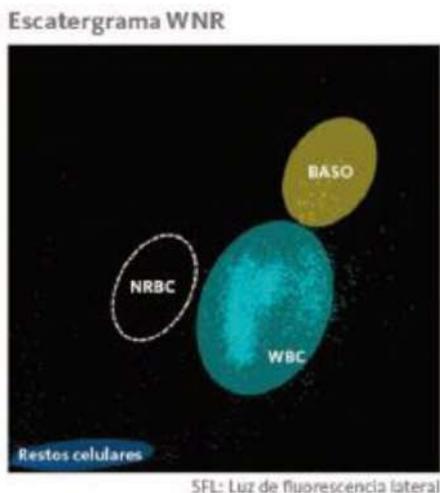


Figura 15. Diagramas de dispersión del canal WNR del analizador Tomado de: Sysmex XN. Tomado de: Sysmex manual de técnicas y del operador.

la tinción con peroxidasa, fluorescencia, colorantes de RNA, agentes lisantes celulares específicos e imágenes digitales (3).

En la figura 16, se puede observar el citograma de un paciente con recuento diferencial normal gracias a la combinación de dispersión lateral (complejidad celular), dispersión frontal (tamaño), y fluorescencia (concentración de ácidos nucleicos ADN y ARN) de las células nucleadas, proporciona una imagen precisa y concisa de cada célula de sangre periférica detectada en el analizador Sysmex® XE-2100. En el panel de la izquierda, el citograma muestra cuatro poblaciones de leucocitos: linfocitos (L), monocitos (M), neutrófilos y basófilos (N + B) y eosinófilos (E). En el panel de la derecha, el citograma complementario muestra dos poblaciones; neutrófilos (N) y basófilos (B).

A partir de aquí se emitirá una serie de datos concretos, en forma de números o cantidades, que recogen los valores de cada una de las determinaciones que han sido detectadas, y unos gráficos que han sido elaborados a media que los sensores detectan el paso de cada uno de los elementos reconocidos por el contador.

Por último, los sistemas de cálculo integrados en el aparato obtendrán, a partir de los datos primarios medidos, una serie de valores calculados, de importancia en el conjunto del hemograma emitido, entre los que se encuentran los índices eritrocitarios y plaquetarios.

El conjunto de todos estos valores, representados de un modo u otro según el modelo de analizador, constituye el hemograma, que podrán ser visualizados a través de pantalla de forma directa y en tiempo real, y generalmente en colores para facilitar la distinción de los datos agrupados, los diferentes valores hallados en el análisis de cada muestra y que podrán ser impresos, si así se requiere.

En líneas generales, los contadores hematológicos proporcionan una relación de valores numéricos y una serie de gráficos, en un formato variable según el modelo del analizador, que aportan una información muy completa y detallada del estado de la sangre periférica del paciente a estudiar.

Todos los analizadores producen alarmas que avisan de que las mediciones pueden no ser confiables o de la existencia de células anormales, como blastos o eritroblastos y que requieran de la realización de un examen morfológico de sangre periférica.

Estas alarmas deben ser consideradas con los resultados y las representaciones gráficas obtenidos en el analizador, así como con la historia clínica del paciente.

También en los últimos años, en los laboratorios con gran volumen de trabajo se han incorporado sistemas extensores de frotis manual, que permiten estandarizar la calidad de los frotis.

Así como sistemas de microscopía digital automática, que permiten la adquisición de imágenes de frotis de sangre periférica y la preclasificación de las células tanto de la serie blanca como de la serie roja, que permiten automatizar la revisión de los frotis, reduciendo el tiempo de respuesta y facilitando la revisión hematológica y su trazabilidad.

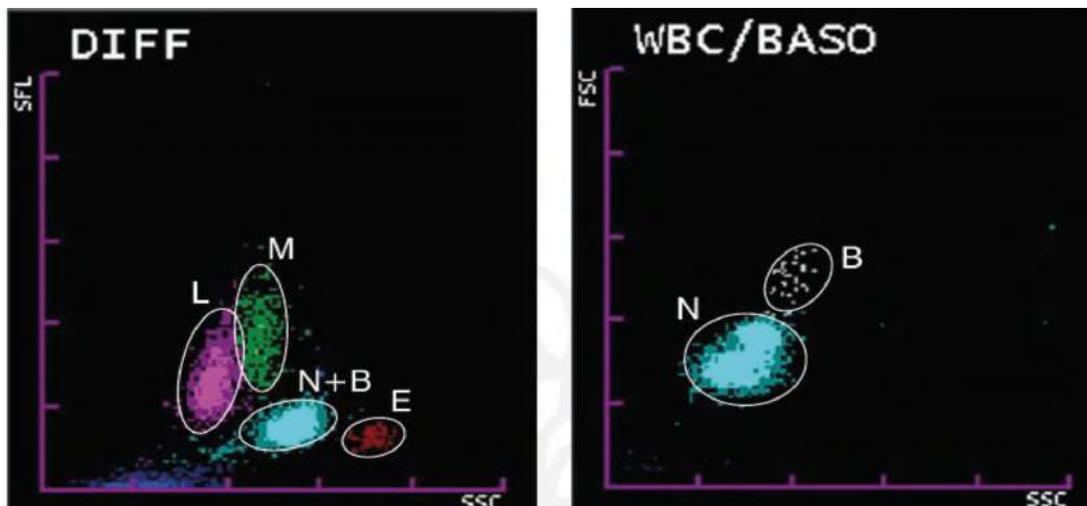


Figura 16. Citograma de leucocitos de un paciente con recuento diferencial de leucocitos normal. Sysmex® XE-2100. Tomado de: Campuzano Maya G. Utilidad clínica del extendido de sangre periférica: los leucocitos. Medicina & Laboratorio 2008; 14: 411-55.

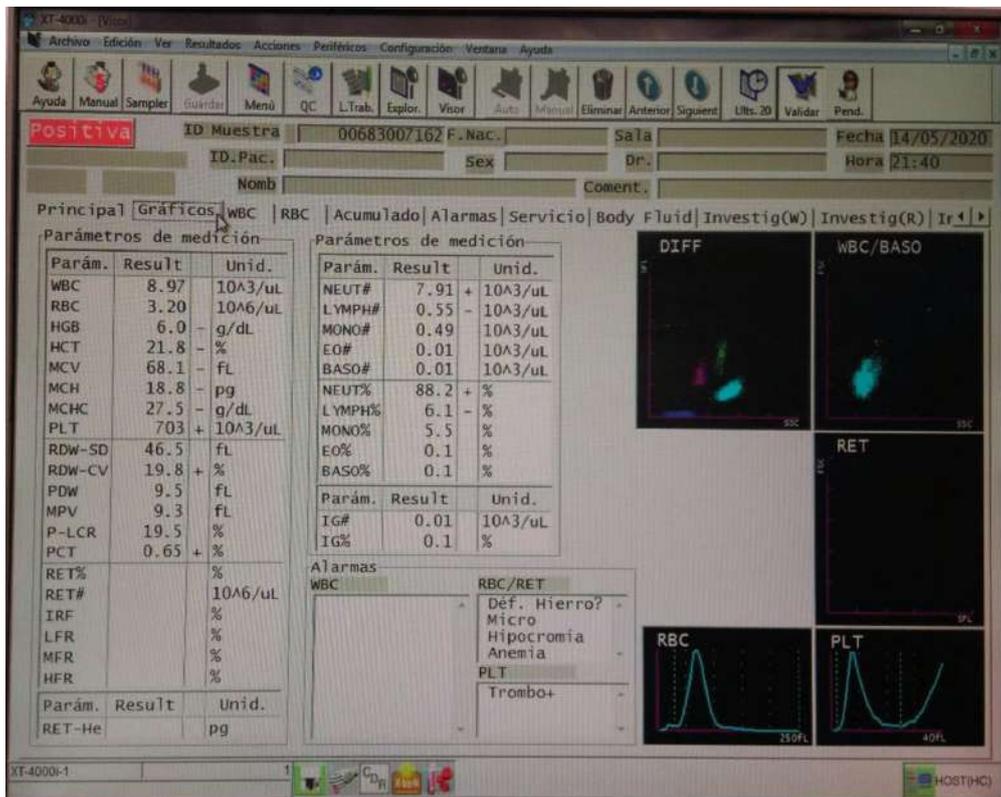


Figura 17. Visualización de resultados en el SysmexXT-4000. A la izquierda aparecen los datos numéricos de los parámetros de la serie blanca, de la serie roja y plaquetar. El recuento diferencial leucocitario se expresa en porcentaje y en valor absoluto. A la derecha se pueden visualizar los citogramas del recuento diferencial leucocitario y los histogramas de los eritrocitos y las plaquetas. Se observa una anemia microcítica e hipocroma. También se pueden visualizar las alarmas generadas en la serie roja.

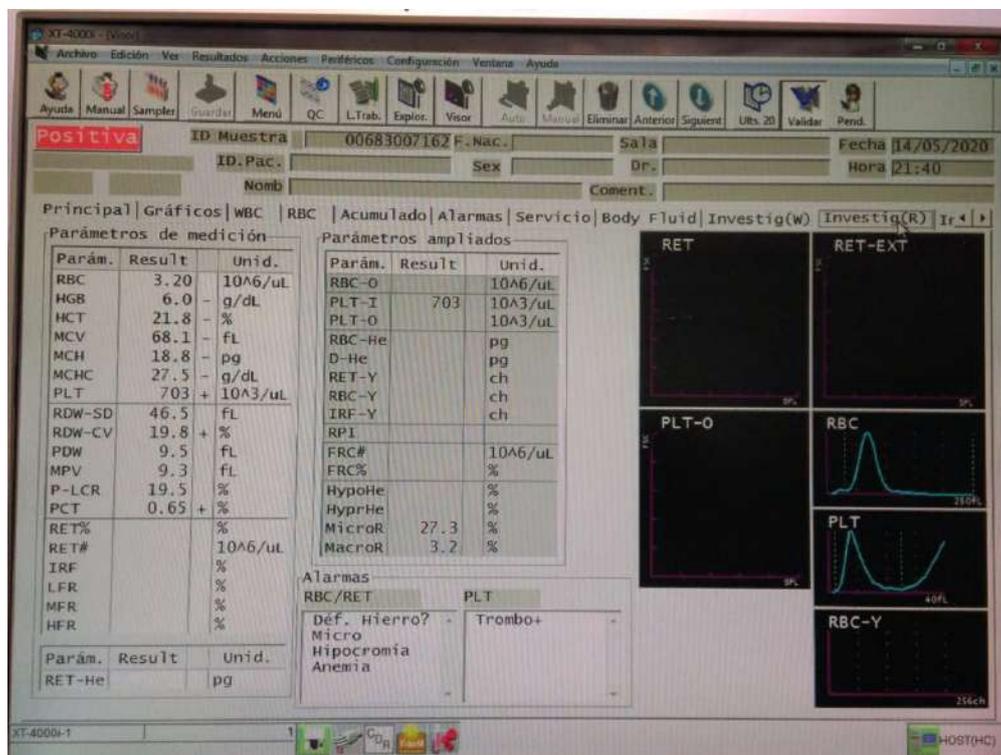


Figura 18. Visualización de resultados del hemograma anterior con los datos de %MacroR (macrocitosis) y %MicroR (microcitosis).

LABORATORIO DE URGENCIAS			
Determinación	Resultado	Unidades	V.Referencia
HEMATOLOGÍA			
HEMATIMETRÍA			
HEMOGRAMA			
Hemates	* 3,20	$\times 10^{12}/L$	(4,00 - 5,50)
Hemoglobina	* 6,00	g/dL	(12,00 - 16,00)
Hematocrito	* 21,80	%	(36,00 - 48,00)
VCM	* 68,10	fL	(78,00 - 102,00)
HCM	* 18,80	pg	(26 - 34)
CHCM	* 27,50	g/dL	(30,00 - 33,00)
ADE	* 19,80	%	(11,50 - 15,50)
Leucocitos	8,97	$\times 10^9/L$	(4,00 - 11,00)
Neutrófilos %	* 88,20	%	(40 - 74)
Linfocitos %	* 6,10	%	(19 - 48)
Monocitos %	5,50	%	(3,4 - 12)
Eosinófilos %	0,10	%	(0,1 - 6)
Basófilos %	0,10	%	(0 - 1,5)
Neutrófilos	7,91	$\times 10^9/L$	(1,5 - 12)
Linfocitos	* 0,55	$\times 10^9/L$	(0,9 - 5,2)
Monocitos	0,49	$\times 10^9/L$	(0,16 - 1)
Eosinófilos	* 0,01	$\times 10^9/L$	(0,1 - 0,6)
Basófilos	0,01	$\times 10^9/L$	(0 - 0,2)
Plaquetas	* 703	$\times 10^9/L$	(150 - 450)
VPM	9,3	fL	

Figura 19. Informe del hemograma de la imagen anterior que se integrará en la historia clínica del paciente, en el cual han desaparecido los gráficos y sólo aparecen los datos numéricos acompañados de sus valores de referencia.

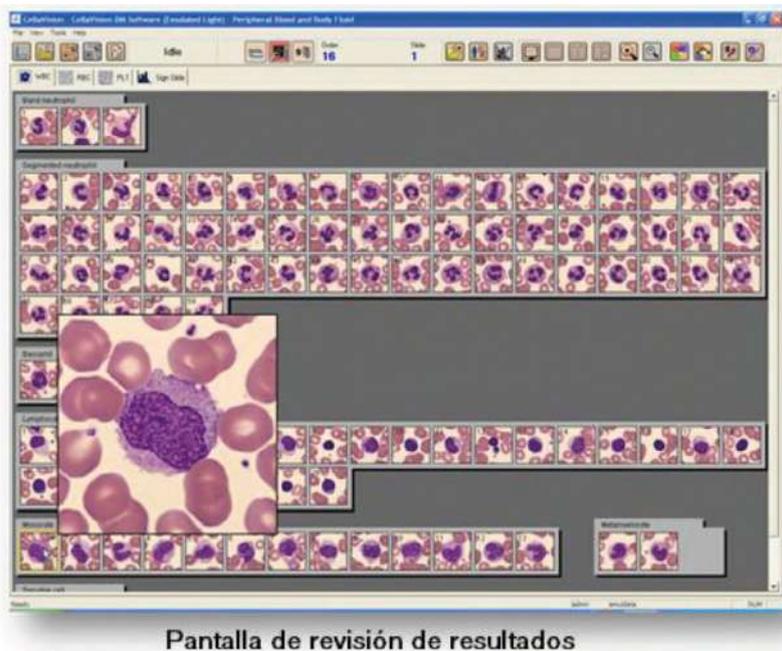


Figura 20. Visualización de resultados de microscopía digital automática CellaVision® DM1200.

3.4. Resumen

La función más importante de los analizadores de hemati-metría es proporcionar los resultados de los parámetros que conforman el hemograma, necesarios tanto para el diagnóstico como para el seguimiento de los pacientes.

La combinación de las técnicas de impedancia, óptica y citometría de flujo aplicadas al hemograma, han posibilitado la incorporación de nuevos parámetros en la caracterización

de las series celulares hematopoyéticas, especialmente la serie roja.

Los fabricantes aplican la tecnología de manera diferente en sus analizadores, por lo que algunos parámetros son exclusivos de cada proveedor.

En resumen, los contadores hematológicos se han convertido en una herramienta poderosa en la orientación diagnóstica, pronóstica y terapéutica de los trastornos he-

matológicos, incluidas las anemias carenciales, de manera rápida, precisa y relativamente barata.

3.5. Bibliografía

1. Coulter WH. Means for counting particles suspended in a fluid, 1953; US Patent #2,656,508.
2. González de Buitrago JM. Tecnología y métodos de laboratorio clínico. 3a ed. Barcelona: Elsevier Masson; 2010.
3. George TI. Automated hematology instrumentation [Monografía en Internet]. Wolters Kluwer: UpToDate; 2020 [acceso 20 de octubre de 2020]. Disponible en: <http://www.uptodate.com>.
4. Gil J. Hematología sin microscopio: El hemograma en la práctica clínica. 2ª edición. Barcelona: Elsevier-Masson, 2006.
5. Panizo C, Lecumberri R, Rodríguez P, coordinadores. Interpretación básica de las pruebas de laboratorio de Hematología. 2ª edición. Barcelona: Ambos Marketing Services; 2018.
6. Urrechaga E, Borque L, Escanero JF. Biomarkers of hypochromia: the contemporary assessment of iron status and erythropoiesis. *Biomed Res Int*. 2013;603786.
7. Kratz A, Maloum K, O'Malley C, Zini G, Rocco V, Zelmanovic D, et al. Enumeration of nucleated red blood cells with the ADVIA 2120 hematology system: an international multicenter clinical trial. *Lab Hematol*. 2006; 12(2): 63–70.
8. Pipitone S, Pavesi F, Testa B, Bardi M, Perri GB, Gennari D; et al. Evaluation of automated nucleated red blood cells counting on Sysmex XE5000 and Siemens ADVIA 2120. *Clin Chem Lab Med* 2012;50(10): 1857–9.
9. Tantanate C, Klinbua C. Performance evaluation of the automated nucleated red blood cell enumeration on Sysmex XN analyser. *Int Jnl lab Hematol*. 2015; 37(3):341-5.

4. OBTENCIÓN, TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS EN HEMATIMETRÍA

4.1. Definición de preanalítica

El Laboratorio Clínico desempeña un papel fundamental en el proceso asistencial del paciente, ya que gestiona una información que sirve de apoyo a las decisiones clínicas, de hecho, más del 70 de las decisiones clínicas se toman según los resultados emitidos por el Laboratorio (1).

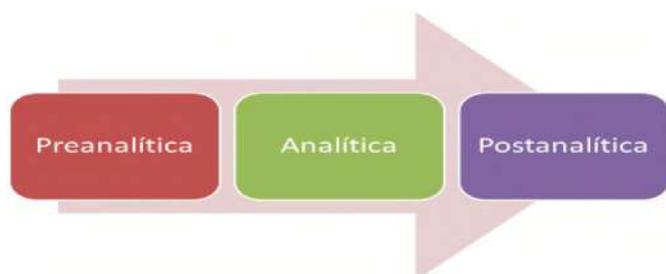


Figura 1. Proceso global del laboratorio.



Figura 2. Etapas de la fase preanalítica.

La Norma UNE-EN ISO 15189:2013 define los procesos preanalíticos como «Procesos que comienzan cronológicamente a partir de la petición del médico clínico e incluyen la petición de los análisis, la preparación e identificación del paciente, la toma de la muestra primaria y el transporte hasta el interior del laboratorio, y que terminan cuando comienza el proceso analítico» (2).

Según la norma UNE-EN ISO 15189:2013, el laboratorio clínico debe garantizar que todas aquellas actividades de la fase preanalítica no afectarán a los resultados obtenidos que se ofrecen al médico peticionario, la trazabilidad de las muestras primarias ni a los aspectos relativos a la interpretación de los resultados (3).

En la fase preanalítica es donde mayor número de profesionales de diferentes disciplinas van a intervenir, desde el médico que solicita la petición analítica hasta el personal que transporta la muestra al laboratorio. Por lo tanto, son más propensas a sufrir errores.

En algunos estudios, se evidencia que la frecuencia de errores en la fase preanalítica no es despreciable. En el estudio de *Plebani et al.* (4), sobre seguridad en el laboratorio, concluye que los errores en la fase preanalítica representan entre el 46 al 68% del total de errores. Estos errores no sólo conllevan retrasos en la entrega de resultados, sino que ponen en peligro la seguridad del paciente por riesgo de diagnóstico o tratamiento incorrecto además de la realización de pruebas complementarias innecesarias, generando un coste asistencial y económico elevado.

Los puntos más vulnerables a errores o incidencias en la fase preanalítica son los siguientes (5):

- Solicitudes inadecuadas o incompletas, que pueden afectar a una buena interpretación de los resultados comprometiendo la seguridad del paciente.
- Toma defectuosa de muestras, incluyendo la preparación del paciente, la identificación de las muestras, la inadecuada extracción de sangre (extracción de sangre a partir de vías y la utilización de contenedores inadecuados, así como extracciones con técnica incorrecta) que ocasionan en la mayoría de los casos muestras hemolizadas, insuficientes o coaguladas. Estos errores se ven incrementados cuando el proceso lo realiza personal ajeno al laboratorio.
- Identificación insuficiente o incorrecta del paciente.

La reducción de estos errores en la fase preanalítica se ha convertido en una prioridad para los profesionales de laboratorio, para ello han de establecerse un conjunto de indicadores de calidad en la fase preanalítica, como la solicitud de pruebas inadecuadas para patologías críticas o errores de identificación del paciente (6), así como la formación e información a todos los profesionales sanitarios implicados en la fase preanalítica.

4.2. Petición de los análisis

El laboratorio debe informar a los médicos peticionarios sobre la forma de realizar la petición de los análisis. En la petición analítica deben constar los datos necesarios que se especifican (3):

- Identificación inequívoca del paciente (nombre y apellidos, número de historia clínica y de tarjeta sanitaria, sexo, fecha de nacimiento, etc..).
- Identificación del médico peticionario que solicita el análisis.
- Destino del informe.
- Pruebas analíticas solicitadas.
- Información clínica relevante para la correcta interpretación de los resultados.
- Para el personal de enfermería que realiza la extracción de los tubos, qué tubos y/o contenedores que se requieren para la toma y el envío de muestras.
- Fecha y hora de la obtención de la muestra y de la recepción de las muestras en el laboratorio clínico.

Se recomienda el uso de un gestor de petición electrónica ya que garantiza la obtención de todos los datos necesarios citados de forma segura y la trazabilidad del proceso.

4.3. Obtención de las muestras

Las muestras para hematimetría se obtienen, en general, junto con las muestras destinadas a otras zonas del laboratorio (bioquímica, inmunología, microbiología, etc), por lo que se requiere un ayuno mínimo de 4 horas, preferible de 12 horas.

La determinación del hemograma no precisa ninguna preparación del paciente. Los leucocitos pueden aumentar, aunque no de manera notable, tras el ejercicio, por fumar o después de una comida abundante (7).

4.3.1. Consideraciones previas a la extracción

La posición del cuerpo influye en la concentración de los componentes de la sangre. Un cambio desde la posición a la vertical produce un movimiento de agua desde el compartimento intravascular al intersticial. La consecuencia es una reducción del volumen plasmático, con el consiguiente aumento en la concentración sanguínea en componentes celulares y macromoleculares.

En consecuencia, la extracción de sangre a un paciente encamado, aumenta entre un 5% y un 15% la concentración de los componentes celulares (hemoglobina, leucocitos, hematocrito y eritrocito), con respecto a las concentraciones obtenidas en el mismo paciente en posición vertical. Este efecto se acentúa en aquellos pacientes con tendencia a presentar edemas (insuficiencia cardíaca, cirrosis) (7).

La contaminación de las muestras de laboratorio por soluciones de infusión intravenosa es la interferencia preanalítica más común y más relevante en el paciente hospitalizado. La sangre nunca debe extraerse de una zona próxima al lugar de la infusión, sino del brazo opuesto. Si es posible se deberá esperarse una hora después de terminado la infusión de sueros salinos o glucosados y 8 horas después de nutrición parenteral para obtener la muestra del laboratorio. Si las muestras son tomadas de

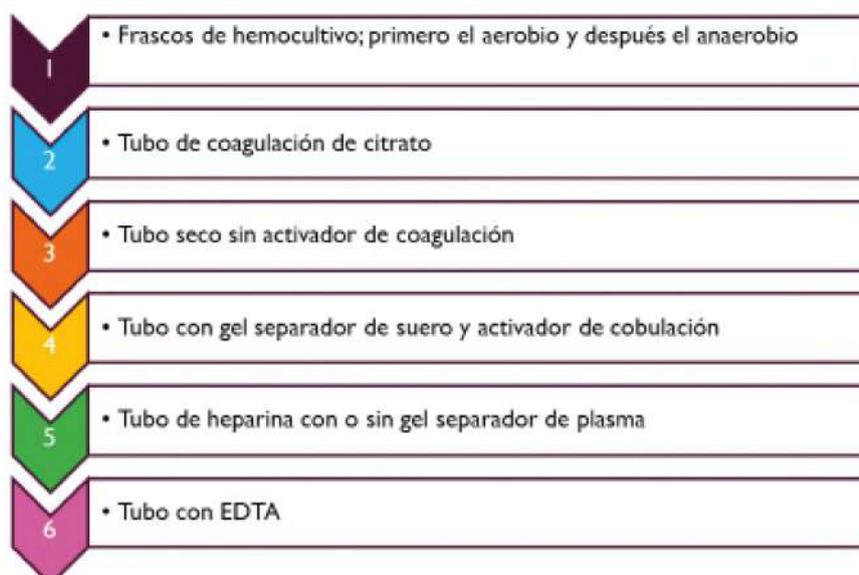


Figura 3. Orden de extracción de tubos.

un catéter, éste debe enjuagarse con solución salina isotónica y desechar los cinco-diez primeros mililitros de sangre antes de la obtención de la muestra de sangre (8).

4.3.2. Obtención de la muestra

No es objeto de este capítulo describir el procedimiento de venopunción. Sólo recordar el orden recomendado de llenado de los tubos, para evitar contaminaciones entre tubos cuando se usan sistemas de vacío.

Según el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI), el orden de extracción de los tubos sería el siguiente (8):

1. Frasco para hemocultivos
2. Tubo con citrato (tapón azul celeste).
3. Tubo para suero con activador de coágulo, con o sin gel separador (tapón amarillo/rojo).
4. Tubo con heparina (tapón verde)
5. Tubo con EDTA (tapón malva).
6. Tubo con fluoruro/citrato-fluoruro (tapón gris).

Una vez realizada la extracción, es muy importante mezclar con cuidado la sangre con el anticoagulante para evitar la formación de coágulos o microcoágulos, que podrían alterar los resultados del hemograma.

La muestra o espécimen utilizada para la realización del hemograma es sangre total anticoagulada, recogida en tubos de **EDTA** (ácido etilen-diamino-tetraacético), en su forma tripotásica (K_3EDTA) o dipotásica (K_2EDTA), que presentan los tapones de **color malva**.



El EDTA respeta la morfología de las células sanguíneas durante un tiempo prolongado y no interfiere en la velocidad de sedimentación globular (VSG). El EDTA es un anticoagulante, ya que actúa como agente quelante de los iones calcio, inhibiendo así su participación en la cascada de la coagulación y, por tanto, evitando que ésta se lleve a cabo.

El Comité Internacional de Estandarización en Hematología (ICSH) y el CLSI recomiendan el uso de la sal dipotásica, por mostrar menores diferencias con los valores de referencia, pero la diferencia entra ambas sales es tan escasa, que su uso indistinto no altera los resultados.

Se debe respetar el volumen de llenado especificado por los fabricantes, ya que variaciones en la relación de volumen entre el anticoagulante y la muestra, puede dar lugar a cambios en el tamaño y la forma de eritrocitos, leucocitos y plaquetas, ya que cuando se aumenta la proporción del anticoagulante produce un aumento de la osmolaridad.

Todas las magnitudes biológicas que se realizan en hematimetría se realizan a partir del tubo primario. Es muy importante resaltar que nunca deben hacerse alícuotas del tubo de hemograma antes de su procesamiento, ya que se pueden alterar las concentraciones celulares (9).

4.4. Transporte de las muestras

Las muestras diagnósticas deben transportarse siguiendo las normativas vigentes tanto si se realizan por medios propios como por medios contratados.

Cuando las muestras biológicas deben ser transportadas por vía terrestre, deben cumplir con los requisitos del *Acuerdo Europeo sobre Transporte Internacional de Mercancías Peligrosas por Carretera* (10).

El sistema de embalaje que deberá utilizarse para las muestras biológicas, es el sistema triple P650 que comprende los siguientes elementos:

- *Recipiente primario*: recipiente impermeable y estanco que contiene la muestra. Los de propileno y poliestireno son los recomendables. Han de estar cerrados para evitar su posible derrame y trasladarse en posición vertical.
- *Recipiente secundario*: es el que contiene al recipiente primario. Debe ser impermeable y estanco y tener mate-

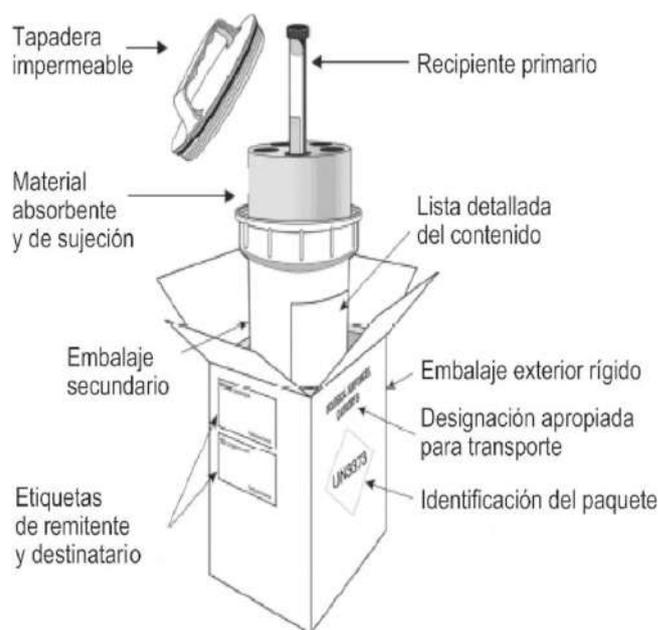


Figura 4. Triple envasado sustancias infecciosas categoría B. Tomado de: Organización Mundial de la Salud. *Guía sobre la reglamentación relativa al Transporte de sustancias infecciosas 2007-2008 [Monografía en Internet]. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2007 [acceso 22 de abril de 2020]. Disponible en: https://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/WHO_CDS_EPR_2007_2_SP.pdf*

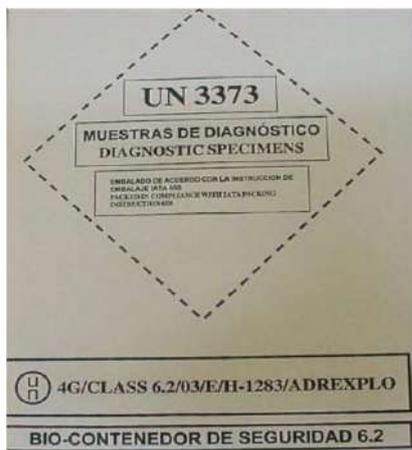


Figura 5. Marca para sustancias infecciosas de categoría B. Tomado de: Organización Mundial de la Salud. *Guía sobre la reglamentación relativa al Transporte de sustancias infecciosas 2007-2008* [Monografía en Internet]. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2007 [acceso 22 de abril de 2020]. Disponible en: https://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/WHO_CDS_EPR_2007_2_SP.pdf

rial absorbente entre él y el primario para absorber todo el líquido en caso de rotura.

- *Recipiente terciario*; es el que contiene al recipiente secundario. Debe ser resistente a golpes y roturas. Debe de estar rotulado como "MATERIAL BIOLÓGICO, CATEGORÍA B" con la marca UN "UN3373" e ir acompañado de los documentos de envío.

El laboratorio clínico que recibe o envía muestras biológicas debe garantizar la identificación y garantía de la trazabilidad de las muestras y las solicitudes, la formación del personal que manipula y transporta las muestras para garantizar sus características originales y la definición de las condiciones de preparación, manipulación y transporte que requiere cada muestra.

Como veremos en el apartado siguiente, las muestras de sangre total para hematimetría tienen una caducidad bastante rápida, por lo que el tiempo de transporte debe ser lo más corto posible.

La temperatura de conservación y transporte influye en algunas propiedades biológicas de las muestras.

Otras consideraciones a tener en cuenta, aparte de que las muestras se transporten en posición vertical, se debe evitar que sufran movimientos bruscos y sean agitadas durante el transporte y se debe evitar el contacto directo con la luz, ya que altera algunas propiedades biológicas.

4.5. Recepción y conservación de las muestras en el laboratorio

El personal de laboratorio que recibe las muestras en el laboratorio debe realizar la revisión de las muestras que llegan al mismo. Como normal general, son criterios de rechazo de muestras; muestra con errores de identificación, muestras derramadas, muestras cuyo transporte y conservación no ha sido adecuado, contenedor incorrecto, muestra diluida, etc. En el caso de muestras para hematimetría: muestras con volumen insuficiente, muestra coagulada.

Una vez registradas las peticiones analíticas de las mismas, las muestras serán distribuidas a la sección de laboratorio correspondiente.

La tabla 1 resume la estabilidad más aceptada por diversos autores de las diferentes magnitudes que conforman la hematimetría a temperatura ambiente y a temperatura de refrigeración, ya que no existe unanimidad sobre las mismas. El tubo de hemograma debe entenderse como un todo y no por magnitudes específicas, por lo que la temperatura de transporte y el tiempo máximo estarían limitados por la magnitud menos estable.

La magnitud menos estable del hemograma es el volumen plaquetario medio (VPM), que aumenta hasta la primera hora de extracción para luego estabilizarse. Es una alteración conocida y aceptada desde que se usa el EDTA como anticoagulante. El plaquetocrito, que es plaquetas por VPM, también es una magnitud que presenta un artefacto. Pero no es una limitación para la conservación y transporte de muestras.

Los diferentes contadores hematológicos que existen en el mercado usan diferente tecnología para realizar el recuento diferencial leucocitario. El tipo de clasificación celular condicionará la estabilidad de la muestra.

Es conocido que el EDTA altera la morfología leucocitaria a partir de las 3 horas de la extracción. Se acepta que según la tecnología usada la estabilidad varía entre 2 y 6 horas a temperatura ambiente.

Cabe resaltar que, en la actualidad, en la mayoría de los laboratorios clínicos se realiza un hemograma completo a todas las muestras, es decir, con recuento diferencial leucocitario, por lo que deben conservarse a temperatura ambiente y nunca a 4 °C, ya que las alteraciones morfológicas se producen más rápidamente.

Dependiendo de las diferentes alarmas que dan los diferentes analizadores, es necesario realizar la revisión manual o frotis a partir del tubo del EDTA, para confirmar la posible presencia de células anormales. El tiempo máximo recomendado que debe pasar entre la extracción y la realización del frotis manual es de 3 horas.

4.6. Causas de errores preanalíticos y artefactos de la muestra de hematimetría

Es recomendable la inspección visual del tubo de hemograma en reposo para visualizar el plasma, ya que se puede detectar la presencia de hemólisis, lipemia, ictericia o presencia de pequeños coágulos en el mismo.

Todas estas alteraciones producen interferencias que pueden repercutir en la calidad de los resultados obtenidos y que dependerán de la tecnología usada y deben estar descritas en los procedimientos normalizados de trabajo de cada laboratorio.

Hay que conocer y prestar atención a las diferentes alarmas del analizador, ya que pueden indicar interferencias en la lectura de la muestra (9,11):

Tabla 1. Estabilidad recomendada de las magnitudes biológicas de la hematimetría. Adaptado de: Jou JM. Manual de Obtención, transporte y Conservación de Muestras Biológicas en Hematología y Hemoterapia. Madrid: Acción Médica; 2003.

Magnitud biológica	Temperatura ambiente (18-25 °C)	Temperatura de refrigeración (4-8 °C)
HEMOGRAMA		
Leucocitos	1 d	2 d
Hematíes	4 d	7 d
Hemoglobina	4 d	7 d
Hematocrito	1 d	2 d
VCM	1 d	2 d
HCM	4 d	7 d
CCMH	1 d	2 d
Plaquetas	12 h	1 d
Reticulocitos	2 d	3 d
RECUESTO DIFERENCIAL LEUCOCITARIO (RDL)		
RDL automatizado	De 2 a 12 h según la tecnología usada	No
Alarmas del RDL automatizado	De 2 a 6 h según la tecnología usada	No
Extensión del RDL manual	3 h	No

- La no aspiración de la muestra: puede que la muestra esté coagulada.
 - Valores de la serie roja falsamente elevados: una leucocitosis superior a 30000/mm³ y muestras lipémicas elevan falsamente el valor de hemoglobina (Hb), hemoglobina corpuscular media (HCM) y la concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM). Concentraciones de glucosa superiores a 400 mg/dL y la hiperosmolaridad también elevan falsamente el valor del volumen corpuscular medio (VCM) y del hematocrito (Hto).
 - Elevación de CHCM: muestra hemolizada o icterica.
 - Valores de la serie roja falsamente disminuidos: muestra coagulada o diluida, por estar extraída de un catéter intravenoso que no ha sido depurado convenientemente.
 - VCM elevado no esperado: muestra mal conservada o vieja.
 - Disminución de plaquetas no esperadas: pequeños coágulos de fibrina, pseudotrombocitopenia inducida por el EDTA. La pseudotrombocitopenia inducida por EDTA es un fenómeno de aglutinación *in vitro* de las plaquetas. Esta aglutinación es mediada por autoanticuerpos que reconocen antígenos de las plaquetas modificados por el EDTA.
 - Curva de distribución de plaquetas anormal cuando no se espera: muestra parcialmente coagulada.
 - Se observan las poblaciones leucocitarias de manera difuminada: muestra mal conservada o vieja.
 - Aparición de desviación izquierda y linfocitos atípicos con RDL normales: muestra mal conservada o vieja.
 - Monocitosis y basofilia no esperadas: muestra mal conservada o vieja.
 - Las aglutininas frías en título elevado suelen causar macrocitosis y recuento de eritrocitos bajos con valores altos de CHCM. El problema se elimina calentando el tubo de EDTA o el diluyente.
 - Mala separación de las poblaciones de reticulocitos: muestra mal conservada o vieja.
 - Y otras específicas de cada modelo de analizador.
- Las siguientes alteraciones en el frotis o extensión de sangre periférica, pueden hacernos sospechar que la muestra está mal conservada o es vieja:
- Mayor frecuencia de leucocitos rotos.
 - Fondo de la extensión de color azul-gris.
 - Aumento del tamaño de las plaquetas.
 - Aumento no esperado de bandas.
 - Vacuolización citoplasmática de los monocitos.
 - Contorno deformado de linfocitos y neutrófilos.
 - Linfocitos con la forma del núcleo alterada.
 - Aparición de células con morfología poco definida y que pueden ser clasificadas como: linfocitos, monocitos, linfocitos reactivos, linfocitos atípicos e incluso células blásticas.
 - También se producen alteraciones morfológicas de la serie roja, como la presencia de acantocitos, esquistoci-

tos, dianocitos, que impiden realizar un diagnóstico certero.

4.7. Resumen

El laboratorio clínico debe garantizar que las actividades propias de la fase preanalítica no afectarán a los resultados obtenidos en el proceso analítico que se ofrecen al médico peticionario, a la trazabilidad de las muestras primarias ni a los aspectos relativos a la interpretación de los resultados.

Las muestras para hematimetría deben ser extraídas en el orden de llenado adecuado para evitar contaminaciones, identificadas correctamente y transportadas verticalmente lo más rápidamente posible al laboratorio. Una vez recibidas en el laboratorio, deben ser revisadas y procesadas lo más rápidamente posible, dada la corta estabilidad de la muestra.

El personal de la sección de hematimetría debe ser formado y conocer las causas preanalíticas y los artefactos más comunes de las muestras de hematimetría, que pueden repercutir en la fiabilidad de los resultados obtenidos.

4.8. Bibliografía

- Hallworth MJ. The "70% claim": what is the evidence base? *Ann Clin Biochem* 2011; 48: 487-8
- Asociación Española de Normalización (AENOR). Laboratorios clínicos. Requisitos particulares para la calidad y la competencia. UNE-EN ISO 15189. Madrid: AENOR; 2013.
- Formoso Lavandeira MD, Parrillas Horche V, Izquierdo Álvarez S, Marzana Sanz I, Bernabeu Andreu FA, Chueca Rodríguez MP et al. Gestión de los procesos preanalíticos en los laboratorios clínicos según los requisitos de la Norma UNE-EN-ISO 15189:2013. Recomendación (2015). *RevLab Clin.* 2016; 9(4):189-94.
- Plebani M. Errors in clinical laboratories or errors in laboratory medicine? *Clin ChemLabMed.* 2006; 44(6):750-59.
- Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Laboratorio Clínico Central. Estándares y recomendaciones de calidad y seguridad. [Monografía en Internet]. Madrid: Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad; 2013 [acceso 22 de abril de 2020]. Disponible en: https://www.msbs.gob.es/organizacion/sns/plan-CalidadSNS/docs/Laboratorio_Clinico_EyR.pdf.
- Lippi G, Simundic AM, Mattiuzzi C. Overview on patient safety in health care and laboratory diagnostics. *Biochimica Medica* 2010; 20(2):131-43.
- Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. Samples: From the patient to the laboratory. The impact of preanalytical variables on the quality of laboratory results. 2ª ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001.
- CLSI. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture, Approved Standard, 6th edtion. GP 41-A6 (former H3-A6). Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007.

- Jou JM, coordinador. Manual de obtención, transporte y conservación de Muestras Biológicas en Hematología y Hemoterapia. Madrid: Acción Médica; 2003.
- Texto remendado de los Anejos A y B del Acuerdo Europeo sobre transporte internacional de mercancías peligrosas por carretera (ADR 2019) con las enmiendas adoptadas durante las sesiones 100, 101, 102, 103 y 104 del Grupo de trabajo de transportes de mercancías peligrosas de la Comisión Económica para Europa de las Naciones Unidas (CEPE). Boletín Oficial del Estado nº 154, (28-06-2019).
- Panizo C, Lecumberri R, Rodríguez P, coordinadores. Interpretación básica de las pruebas de laboratorio de Hematología. Madrid: Acción Médica Grupo; 2009.

5. ANEMIA FERROPÉNICA

5.1. Introducción

Como ya se ha comentado en el capítulo anterior la anemia es un trastorno de elevada prevalencia mundial, cuyas causas a investigar incluyen las carencias nutricionales. Las anemias carenciales más prevalentes se originan por déficit de hierro, vitamina B₁₂ y ácido fólico.

La ferropenia es el trastorno nutricional más frecuente y extendido en el mundo. Es el único déficit nutricional que además de afectar a la población de los países en desarrollo, es también muy prevalente en los países industrializados. Aproximadamente el 50% de las anemias son por déficit de hierro, siendo uno de los principales problemas de salud pública (1).

Los grupos de riesgo principales son las mujeres en edad fértil, niños, embarazadas y adultos mayores de 65 años (2).

5.2. Metabolismo del hierro

El hierro es un micronutriente esencial para el organismo, formando parte de proteínas transportadoras de oxígeno (hemoglobina y mioglobina), citocromos y otros sistemas enzimáticos como la cadena transportadora de electrones. También participa en el proceso de proliferación celular y en el correcto funcionamiento del sistema inmune. (1, 3)

El contenido normal de hierro en el adulto es de 3-4 g. La mayoría se encuentra circulando en el interior de los hematíes en forma de hemoglobina. El resto se encuentra en los depósitos, en las células del parénquima hepático

Tabla 1. Distribución del hierro en el cuerpo humano.

Hemoglobina	2 g
Mioglobina, citocromos y catalasas	400 mg
Transferrina	3 – 7 mg
Ferritina y hemosiderina	0.8 – 1 g en hombres, 0.4 – 0.5 g en mujeres

y en los macrófagos del sistema reticuloendotelial en forma de ferritina y hemosiderina. Únicamente 3-4 mg de hierro circulan en el plasma como hierro intercambiable unido a la transferrina. (Tabla 1) (1, 2, 4):

El metabolismo del hierro constituye un ciclo cerrado. El hierro en la eritropoyesis medular se incorpora a la hemoglobina y los eritrocitos al finalizar su ciclo, son eliminados (eritrocitólisis) en el sistema fagocítico mononuclear (SFM), principalmente en el bazo. El hierro entonces es liberado al plasma, desde donde alcanza la médula ósea para volver a incorporarse nuevamente al ciclo. (Figura 1) (1)

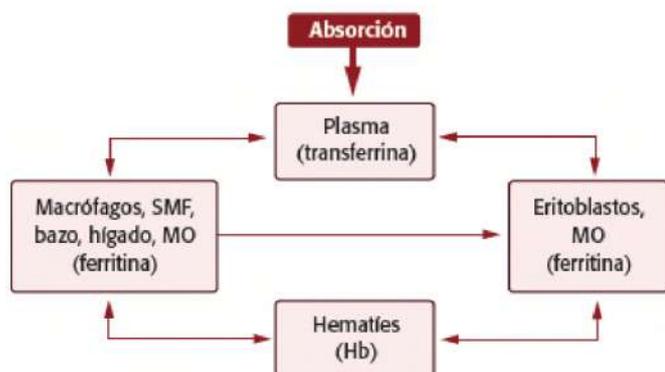


Figura 1. *Círculo cerrado del hierro tras la absorción. Tomado de: Hernández García MT, Raya Sánchez JM, Moraleda Jiménez JM. Anemia por deficiencia de hierro y otras anemias microcíticas. En: Moraleda Jiménez JM, editor. Pregrado de Hematología. 4ª ed. Madrid: Luzán 5; 2017. p. 57-84.*

Sólo el 10% del hierro presente en la dieta se absorbe a través de los enterocitos del duodeno y yeyuno superior (1 mg/día). El hierro inorgánico, presente en vegetales y legumbres, se encuentra en estado férrico (Fe^{+3}) y se reduce por acción de la reductasa citocromo B duodenal (DcytB), pudiéndose transportar al interior del enterocito por el transportador de metales divalentes 1 (DMT-1). (1, 4)

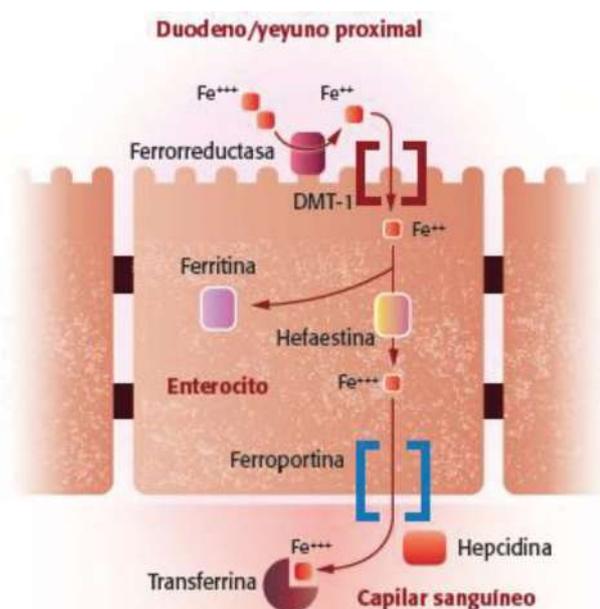


Figura 2. *Absorción intestinal de hierro. Tomado de: Hernández García MT, Raya Sánchez JM, Moraleda Jiménez JM. Anemia por deficiencia de hierro y otras anemias microcíticas. En: Moraleda Jiménez JM, editor. Pregrado de Hematología. 4ª ed. Madrid: Luzán 5; 2017. p. 57-84.*

El hierro hemo, presente en el grupo hemo al ingerir carnes o pescados, se encuentra en estado reducido (Fe^{+2}), absorbiéndose como tal. Se cree que se incorpora al interior del enterocito por el transportador HCP1 (*hemo Carrier protein 1*) (1, 4).

La absorción del hierro inorgánico se encuentra potenciada por factores como la vitamina C y aminoácidos, e impedida por otros como fitatos, taninos, oxalatos, carbonatos y calcio. El hierro hemo se ve impedido sólo por el calcio (1).

Una vez en el interior del enterocito, el hierro puede ser almacenado en forma de ferritina, o bien, puede ser transportado a la sangre. El Fe^{+2} es liberado a la circulación a través de la membrana basolateral mediante la proteína transportadora ferroportina. La hefaestina, una oxidasa homóloga a la ceruloplasmina, oxida el Fe^{+2} para que pueda ser transportado por la transferrina. Este transporte de hierro es inhibido por la unión de la hormona peptídica hepcidina a la ferroportina, quedando el hierro atrapado en el interior del enterocito. (Figura 2) (1, 4).

La transferrina es una proteína capaz de unir dos moléculas de Fe^{+3} , encargándose de la distribución y el intercambio celular del hierro en los tejidos mediante la interacción con los receptores celulares de transferrina (TfR1). Estos receptores se encuentran en todas las células, pero principalmente en hígado, bazo, médula ósea y en los precursores eritroides. Una vez en el interior celular, bien se almacena en forma de ferritina o hemosiderina, o se usa para sintetizar hemoglobina (1, 4).

El intercambio de hierro entre la transferrina y las células es rápido; todo el hierro unido a la transferrina podría liberarse en unas 2 horas. Saturaciones de transferrina por encima del 80% supone la existencia de hierro lábil en el plasma, que provoca toxicidad, ya que son radicales libres (1).

La ferritina tiene una capacidad de almacenar unos 2500 átomos de Fe^{+3} , aumentándose su síntesis en respuesta al aumento de hierro sérico. Cuando se supera su capacidad de almacenaje, el hierro se almacena como hemosiderina, proteína similar, pero de peor intercambio metabólico (1).

La tasa de absorción de hierro es el principal factor regulador del contenido en hierro del organismo y dependerá de la cantidad de proteínas transportadoras presentes en la membrana apical y basal del enterocito. Dependiendo de las necesidades de hierro del organismo, habrá inducción o inhibición de la transcripción de genes implicados en la síntesis de estas proteínas transportadoras (1).

Las principales hormonas reguladoras del metabolismo férrico son la eritropoyetina (EPO) y la hepcidina, que aumentan y disminuyen respectivamente la absorción del hierro (1).

La hepcidina es una proteína de síntesis hepática que al unirse a la ferroportina de enterocitos y macrófagos bloquea la salida del hierro intracelular. También disminuye la síntesis de DMT 1, reduciendo la absorción intestinal. La síntesis de hepcidina se aumenta en estados de sobrecarga férrica (saturación de transferrina elevada) y en proce-

sos infecciosos e inflamatorios (IL-6). De esta forma, frente a una infección, la hepcidina intenta minimizar la disponibilidad de hierro para los microorganismos (mecanismo de defensa antimicrobiana) y controlar la respuesta inflamatoria. Como estímulos inhibitorios de la síntesis de hepcidina se encuentran la EPO, hipoxia y ferropenia (1, 3, 4).

Al día se pierde aproximadamente 1 mg de hierro, siendo la principal vía la descamación del epitelio intestinal. Esta vía es casi la única que tiene el cuerpo para eliminar el hierro almacenado.

5.3. Etiología de la ferropenia

Las principales causas de deficiencia de hierro son la ingesta dietética deficiente, la reducción de la absorción, las pérdidas sanguíneas y estados fisiológicos donde los requerimientos son especialmente altos (crecimiento, embarazo y lactancia). Las principales causas se recogen en la tabla 2 (2):

Tabla 2. Principales causas de déficit de hierro. Modificado de: Valbuena Parralejo H, Ruíz Ripa A, Tejedor Hernández E, Beneitez Pastor D. Anemias carenciales. En: AEBM, editor. Formación continuada 2013-2014. Madrid: AEBM; 2013. p. 248-76.

APORTE INSUFICIENTE	PÉRDIDAS	INCREMENTO DE LAS NECESIDADES
<ul style="list-style-type: none"> • Dieta insuficiente en hierro o vitamina C • Dieta rica en fitatos, taninos y fenoles • Malnutrición • Malabsorción • Infección por <i>H. pylori</i> • Resección gástrica • Gastritis Crónica Atrófica • Enfermedad de Crohn • Celiaquía • Antiácidos y protectores estomacales 	<ul style="list-style-type: none"> • Menstruación • Donación • Hemodiálisis • Hemorragias • Cirugía • Traumatismos • Presencia de parásitos intestinales • Extracción repetida 	<ul style="list-style-type: none"> • Crecimiento • Embarazo y lactancia • Tratamiento con estimuladores de la eritropoyesis

Es importante subrayar que la ferropenia puede acompañarse o no de anemia, ya que frecuentemente los términos se confunden; siendo la anemia el estadio último de la carencia de este mineral (1).

En los países desarrollados la principal causa son las pérdidas de sangre. La mayoría de las causas de pérdida de sangre son fácilmente reconocibles por el clínico. Existe una elevada probabilidad que un déficit férrico oculte una lesión gastrointestinal, 12-16% según diferentes estudios de series de casos. Concretamente, en el estudio NAHNES I de 2002 el déficit de hierro resultó un fuerte predictor de cáncer gastrointestinal en hombres y mujeres postmenopáusicas. Esos datos refuerzan la importancia de investigar las posibles causas de pérdidas sanguíneas, sobre todo en este grupo de pacientes (2).

La otra causa más frecuente es el aporte insuficiente de hierro. Las principales causas en nuestro medio son por enfermedades que afectan a la mucosa intestinal, como la celiaquía, gastritis atrófica, infección por *H. pylori* y cirugía bariátrica. (2) Estas entidades suelen cursar como anemia ferropénica refractaria, aquella que tras 8 semanas de tratamiento con hierro no se ve respuesta: hemoglobina < 11 g/dL y/o ferritina < 15 ng/mL (5).

En los pacientes celíacos la prevalencia de anemia ferropénica es de hasta el 15%, pero es frecuente la presencia de anemia mixta, al existir malabsorción general (folato, vitamina B₁₂, vitamina K). En la gastritis atrófica se produce malabsorción de hierro por la reducción de la acidez, lo que puede enmascarar una anemia megaloblástica. También puede ocurrir al revés, en anemias perniciosas típicas después de tratarlas con vitamina B₁₂, se observa una ferropenia que se debe tratar. También se debe tener en cuenta que en la anemia ferropénica disminuye la vitamina B₁₂ sin que exista un déficit; en estos casos, el tratamiento con hierro normaliza los niveles de vitamina B₁₂ (5).

Por último, añadir que los taninos, fosfatos, fitatos y comidas con alto contenido en calcio dificultan la absorción intestinal de hierro, causando déficit de hierro en personas con pequeñas pérdidas de sangre o con una dieta muy deficiente (2).

5.4. Estadios del déficit de hierro

El hierro almacenado se encuentra fundamentalmente en el SFM del hígado, bazo y médula ósea. Este *pool* de hierro almacenado se reserva para poder satisfacer los aumentos de demanda para la síntesis de hemoglobina en situaciones tales como pérdidas agudas de sangre, lactancia, crecimiento, respuesta a EPO, etc. (2).

La ferritina es un buen reflejo de los niveles de hierro almacenado, excepto en procesos inflamatorios, ya que es una proteína de fase aguda, aumentado su síntesis en estas situaciones. En las primeras etapas de deficiencia se van agotando el hierro almacenado (*depleción férrica*) y si continua, el hierro disponible para la síntesis de hemoglobina (*eritropoyesis ferropénica*). Aun deplecionadas las reservas, existe suficiente hierro procedente del turnover de los hematíes para no presentar anemia (anemia ferropénica subclínica). Si no se corrige, se llega a la fase de anemia donde la biosíntesis del grupo hemo en los eritroblastos medulares apenas tiene lugar. Aparece así una anemia franca (*deficiencia absoluta de hierro*) y las manifestaciones clínicas propias del síndrome anémico (1, 2, 4).

Se diferencia entre deficiencia absoluta de hierro, cuando los depósitos están vacíos o muy bajos, y deficiencia funcional de hierro. En estos pacientes existen reservas de hierro para la correcta hematopoyesis, pero el hierro no está disponible para la producción de hematíes. Existen 2 mecanismos (2, 4):

- *Anemia por inflamación crónica (AEC)*: es el más frecuente. El hierro se encuentra bloqueado en los macrófagos, impidiendo su salida a la circulación. Ocurre en el contexto de una inflamación y aumento de la síntesis de

hepcidina, mediada por IL-6 y endotoxina. Causas: infecciones, neoplasias.

- *Estimulantes de la eritropoyesis*: en el contexto de tratamiento con EPO u otros estimulantes de la eritropoyesis, las reservas no son capaces de suministrar hierro a la tasa necesaria para la producción hematopoyética estimulada.

5.5. Diagnóstico

Ante una anemia microcítica o normocítica el estudio de hierro nos confirmará o excluirá el déficit de hierro como su causa. Además, nos informará de la severidad de la deficiencia.

La anemia ferropénica se caracteriza por niveles de ferritina bajos con transferrina elevada, ya que se aumenta su síntesis como respuesta adaptativa para facilitar la captura y transporte del hierro existente a la MO para mantener la eritropoyesis.

Los siguientes parámetros son las pruebas más relevantes implantadas en el laboratorio clínico para el diagnóstico y manejo de pacientes con anemia ferropénica. Deben evaluarse en su conjunto y dentro del contexto clínico del paciente (1, 2):

- *Hemograma*: como se ha comentado en el capítulo 2, la hematimetría nos aporta información para el diagnóstico y clasificación de las anemias. La *hemoglobina* estará disminuida en las anemias ferropénicas, pero debe tenerse en cuenta que al inicio del déficit de hierro puede ser normal. Según se va estableciendo la ferropenia se van alterando los *índices eritrocitarios*: disminución del HCM (hipocromía) y del VCM (microcitosis) y aumento del ADE (anisocitosis). Los *reticulocitos* estarán normales o disminuidos, ya que no hay hierro disponible para la

eritropoyesis. Las *plaquetas* suelen estar ligeramente aumentadas, aunque se desconoce el mecanismo subyacente.

- *Contenido de hemoglobina reticulocítica*: está disponible en algunos autoanalizadores y tiene el potencial de informar al mismo tiempo la hematimetría y el valor de contenido férrico de los reticulocitos. Como ventaja con respecto a la ferritina, no se ve alterado por estados inflamatorios y es un marcador temprano de la disponibilidad de hierro en la MO, ya que la vida media de los reticulocitos es de 24-48 horas. Es un parámetro que está en investigación, para establecer su papel en el manejo de la anemia ferropénica y la terapia con hierro.
- *Hierro sérico*: mide el hierro circulante, la mayoría unido a la transferrina. El hierro tiene fluctuaciones diarias por causas dietéticas y farmacológicas, recomendándose el ayuno nocturno para su evaluación correcta.
- *Transferrina sérica*: proteína encargada del transporte del hierro. Aumenta en los déficits de hierro y disminuye en las AEC.
- *Saturación transferrina*: es la proporción de hierro unido a la transferrina. En los déficits férricos estará reducida. Como punto de corte se suele usar el 16%. Los valores normales son del 20-55%. Los valores pueden estar elevados por hemólisis o tratamiento reciente con hierro.
- *Ferritina sérica*: es una proteína de almacenamiento de hierro en circulación. Aumenta en proporción al hierro almacenado en el cuerpo. No hay que olvidar que es una proteína de fase aguda, cuya síntesis se ve inducida en estados inflamatorios (infección, hepatopatía, fallo cardíaco o neoplasias), pudiendo enmascarar un déficit férrico. Por lo tanto, niveles bajos confirman el diagnóstico y los elevados no lo descartan.

Tabla 3. Pruebas de Laboratorio empleadas para el diagnóstico de las anemias ferropénicas. Modificado de: Valbuena Parralejo H, Ruíz Ripa A, Tejedor Hernández E, Beneitez Pastor D. Anemias carenciales. En: AEBM, editor. Formación continuada 2013-2014. Madrid: AEBM; 2013. p. 248-76.

HEMOGRAMA	
Hemoglobina	Por debajo del intervalo de referencia
VCM	Por debajo del intervalo de referencia
HCM	Por debajo del intervalo de referencia
Reticulocitos	Por debajo del intervalo de referencia
Reticulocitos hipocromos	Presentes
PARÁMETROS BIOQUÍMICOS	
Hierro	Por debajo del intervalo de referencia
	Puede estar normal o elevado por tratamiento con hierro
Ferritina	Por debajo del intervalo de referencia
	Se eleva en procesos inflamatorios
Transferrina	Por encima del intervalo de referencia
	Disminuye en procesos inflamatorios, desnutrición, enfermedad hepática e insuficiencia renal
Saturación de la transferrina	Por debajo del intervalo de referencia
	Se eleva si está muy disminuida la transferrina o en el tratamiento con hierro o inhibidores del TNF
sTfR	Por encima del intervalo de referencia
	Se eleva si hay hemólisis o eritropoyesis sTfR/Log Ferritina > 2 indica anemia ferropénica

- **Receptor soluble de la transferrina (sTfR):** es una proteína circulante derivada de la escisión del receptor de membrana de la transferrina presente en los precursores eritroides de la MO. Su concentración en suero es directamente proporcional a la tasa eritropoyética e inversamente proporcional a la disponibilidad de hierro por los tejidos. Por lo tanto, estará elevado en los pacientes con anemia ferropénica. Suele ser útil en casos complejos, para diferenciar la anemia ferropénica de la AEC, ya que su síntesis no se ve alterada en los procesos inflamatorios. También se ve elevado en pacientes con hemólisis o tratamiento con estimulantes de la eritropoyesis.

En estos casos lo que se usa es el índice sTfR (ng/L)/Log Ferritina (µg/L). Índice > 2 indica una elevada eritropoyesis con depósitos disminuidos, típico de las anemias ferropénicas o mixtas (ferropénica y AEC). Índice < 1 nos indicará una anemia por proceso crónico (AEC).

El diagnóstico puede hacerse sólo con la ferritina, excelente indicador de los depósitos de hierro, pero en pacientes con alta sospecha y ferritina normal o elevada deben realizarse el estudio completo. En estos casos, además de la saturación de la transferrina, es útil la prueba de respuesta al tratamiento con hierro. Habrá una respuesta rápida y completa: resolución de la clínica, reticulocitosis y elevación de hemoglobina, típicamente en 3 semanas (2).

Como puntos de corte propuestos (1, 2):

- Población sana: Ferritina < 15 ng/mL (< 30 ng/mL en embarazadas)
- Pacientes con anemia o comorbilidades: Ferritina < 41 ng/mL. Si hay evidencia de inflamación, proteína C reactiva (PCR) elevada, se utilizan como punto de corte 100 ng/mL para la ferritina
- Saturación transferrina (IST) < 16% (<20% si existe inflamación)

El diagnóstico diferencial de la anemia ferropénica debe hacerse con otras anemias microcíticas, como son la anemia de las enfermedades crónicas, la anemia sideroblástica y la talasemia. En la tabla 4 se resumen los hallazgos característicos de cada entidad.

5.6. Tratamiento

El tratamiento de la anemia ferropénica se basa en tres pilares: tratar la causa subyacente, corregir el déficit sérico de hierro y reponer los depósitos férricos (5).

El tratamiento con hierro suele ser oral, en forma de sal ferrosa. Debe tomarse antes de las comidas y con vitamina C para aumentar su absorción (zumo de naranja o limón). Hasta en el 20% de los pacientes aparecen efectos adversos (dolor abdominal, náuseas, vómitos, diarrea o estreñimiento), que suelen mejorar reduciendo la dosis. Estudios sugieren que una dosis de 60 a 80 mg a días alternos mejora la biodisponibilidad del hierro oral y disminuiría sus efectos adversos (5).

A las 4-6 semanas debe evaluarse la eficacia del tratamiento, realizando hemograma y perfil de hierro. Debe seguirse el tratamiento hasta que se normalice el hemograma y la ferritina (30 ng/mL en mujeres y 50 ng/mL en hombres) (5).

Para el tratamiento endovenoso con hierro es muy importante conocer que, en ausencia de déficit absoluto o funcional de hierro, no debe prescribirse hierro endovenoso, y en presencia de parámetros de acumulación o sobrecarga de hierro estaría absolutamente contraindicado. Las indicaciones para el hierro endovenoso son (5):

- Anemia grave
- Intolerancia o malabsorción del hierro oral o enfermedad intestinal inflamatoria activa

Tabla 4. Diagnóstico diferencial de las anemias microcíticas. Modificado de: Sánchez Godoy P, Sánchez Salinas A, Moraleda Jiménez JM. Anemia: concepto, clínica y clasificación. En: Moraleda Jiménez JM, editor. *Pregrado de Hematología*. 4ª ed. Madrid: Luzán 5; 2017. p. 35-55.

	ANEMIA FERROPÉNICA	ANEMIA ENFERMEDADES CRÓNICAS	TALASEMIA	ANEMIA SIDEROBLÁSTICA
VCM HCM	Disminuido	Normales o bajos	Muy disminuidos en relación a la anemia	Disminuidos en las congénitas, elevados en las adquiridas
Hierro	Disminuido	Disminuido	Normal o elevado	Elevado
Transferrina	Elevada	Disminuida	Normal	Normal
IST	Muy disminuido	Normal o disminuido	Elevado	Elevado
Ferritina	Disminuida	Normal o elevada > 100 mg/dL	Normal o elevada	Normal o elevada > 500 mg/dL
sTfR/Log Ferritina	> 2	< 1	—	—
Depósitos medulares de hierro	Ausentes	Normales o elevados	Normales	Elevados
Sideroblastos en anillo	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Presentes
Electroforesis hemoglobinas	Normal	Normal	Alterado	Normal

- Pérdidas crónicas de difícil reposición por vía oral (angiodisplasia intestinal con anticoagulación o antiagregación)
- Optimización de la hemoglobina preoperatoria asociada a déficit de hierro en procedimientos de cirugía mayor con pérdidas significativas de sangre a fin de reducir el riesgo de transfusión alogénica
- Pacientes con insuficiencia renal terminal en hemodiálisis o en pacientes con insuficiencia cardíaca crónica
- Déficit funcional de hierro asociado a tratamiento con Epo, siempre que el IST < 20 % y la ferritina < 100 ng/mL

El esquema del tratamiento con hierro en las anemias ferropénicas sería el siguiente (5):

- Estado ferrodeficitario: hierro oral (sales ferrosas)
- Anemia ferropénica: hierro oral.
- Anemia ferropénica refractaria: hay que tratar la causa subyacente (celiaquía, *H. pylori*) y, si fuese necesario, hierro endovenoso
- Anemia ferropénica con inflamación: si presenta anemia importante (Hb < 10 g/dL), se debe administrar hierro intravenoso.

5.7. Puntos clave

A continuación, se enumeran a modo de resumen los aspectos claves a tener en consideración (1, 2):

1. En todo diagnóstico de anemia ferropénica debe investigarse sus causas y así poder elegir la estrategia de tratamiento, así como el tratamiento de la causa subyacente.
2. La derivación a un hematólogo no está indicada en la mayoría de los pacientes con deficiencia de hierro. Sin embargo, la derivación es apropiada en aquellos pacientes en que los estudios de hierro no son concluyentes, el diagnóstico no está claro o se está considerando la administración de hierro intravenoso. La derivación a un gastroenterólogo es apropiada en individuos en los que se sospecha de pérdida de sangre gastrointestinal o de malabsorción.
3. No se debe olvidar que puede coexistir más de una causa y que una causa benigna (hemorroides, hernia de hiato, etc.) puede ocultar otra maligna (neoplasia de colon).
4. Se ha de considerar e investigar la presencia de una anemia mixta cuando exista una inadecuada respuesta al tratamiento con hierro: coexistencia de un déficit de vitamina B₁₂ o folato, etc.
5. Se recomienda el empleo de la concentración plasmática de ferritina para el diagnóstico y manejo de pacientes con ferropenia. El valor discriminante que debe emplearse en adultos es 15 ng/mL.
6. En caso de una concentración de ferritina de interpretación dudosa, o bien en pacientes con inflamación crónica, cáncer, enfermedad hepática o renal, está indicado utilizar la concentración plasmática de transferrina o alguno de sus índices conjuntamente con la ferritina.

7. Se desaconseja el empleo de la sideremia aislada. En el embarazo y en la terapia con estrógenos estos marcadores no son útiles.
8. En caso de hallarse una concentración plasmática de PCR elevada, o en el contexto de una infección crónica, inflamación o cáncer debe utilizarse un valor discriminante de 100 ng/mL para la ferritina. En presencia de una enfermedad renal crónica una concentración hasta 1200 ng/mL no excluye una ferropenia.

5.8. Bibliografía

1. Valbuena Parralejo H, Ruíz Ripa A, Tejedor Hernández E, Beneitez Pastor D. Anemias carenciales. En: AEBM, editor. Formación continuada 2013-2014. Madrid: AEBM; 2013. p. 248-76.
2. Auerbach M. Causes and diagnosis of iron deficiency and iron deficiency anemia in adults. [Monografía en Internet]. Wolters Kluwer: UpToDate; 2020 [acceso 26 de mayo de 2020]. Disponible en: <http://www.uptodate.com>.
3. Hernández García MT, Raya Sánchez JM, Moraleda Jiménez JM. Anemia por deficiencia de hierro y otras anemias microcíticas. En: Moraleda Jiménez JM, editor. Pregrado de Hematología. 4º ed. Madrid: Luzán 5; 2017. p. 57-84.
4. Pérez Surribas D, Gella Concustell A, Cruz Iglesias E, Hermoso Durán S, Urrechaga Igartua E, Alcaide Martín MJ, Merino González A. Estudio de la ferropenia en el laboratorio clínico. *RevLab Clin.* 2019;12(4): p. 34-53
5. Payán Pernía S, Remacha Sardà J. Anemia ferropénica. En: Fundación SEHH, editor. Capacitación avanzada en patología eritrocitaria. 1º ed. Madrid: SEHH; 2019. p. 5-33

6. TALASEMIA

El término talasemia engloba a un grupo heterogéneo de trastornos hereditarios que se caracterizan por un defecto en la síntesis de una o varias de las cadenas de la Hb. Como consecuencia de la menor producción de hemoglobina, los hematíes resultantes son hipocrómicos y microcíticos.

La molécula de Hb está formada por cuatro cadenas polipeptídicas, dos cadenas tipo alfa y dos tipos beta, unidas cada una de ellas a un grupo hemo. Durante el desarrollo fetal la Hb F, formada por 2 cadenas α y 2 cadenas γ , es la predominante. En la edad adulta la Hb F se encuentra en muy poca cantidad (<1%) siendo la mayoritaria la hemoglobina A, (85-98%) formada por 2 cadenas α y 2 β , encontrándose la HbA₂, 2 cadenas α y 2 δ , en una concentración estable minoritaria (1).

Los diferentes tipos de talasemia se clasifican según las cadenas de globina cuya síntesis esté afectada: α -talasemia (disminución de cadenas α), β -talasemia (disminución de cadenas β) o $\delta\beta$ -talasemia (menos frecuentes, disminución simultánea de cadenas δ y β). Existen talasemias en las que coexiste la disminución de la síntesis con

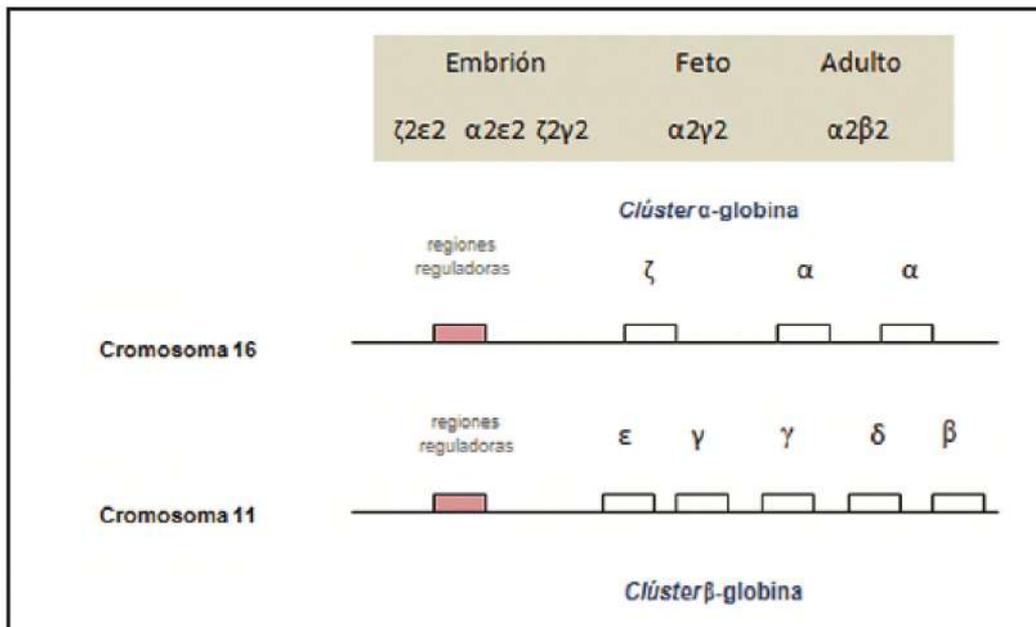


Figura 1. Estructura de los clúster de la α -globina y la β -globina. Tomado de: Carrasco Salas P, López Siles J. Caso clínico: Paciente con anemia microcítica. *Ed ContLab Clín* 2014; 18: 19-27.

un defecto estructural (hemoglobinopatías talasémicas), tal como sucede en la HbE y otras de vidas a un trastorno del intercambio de material genético durante la meiosis (2).

Las talasemias se heredan generalmente como alelos de uno o más genes de la globina, que se localizan ya sea en el cromosoma 11 (para las cadenas β , γ y δ) o en el cromosoma 16 (para las cadenas α). Se encuentran en cualquier población mundial pero son más comunes en el litoral mediterráneo y cerca de las regiones ecuatoriales de África y de Asia. Las frecuencias de los genes para las talasemias α y β en términos globales varían del 1% a más del 80% en aquellas áreas donde el paludismo es endémico (3).

6.1. β -talasemia

Las mutaciones en la β -talasemia se deben principalmente a mutaciones puntuales en el gen HBB del clúster de la β -globina, habiéndose descrito unas 200 mutaciones diferentes. Debido a que las cadenas β están reguladas por un solo gen procedente de cada progenitor, los sujetos afectados pueden ser homocigotos, heterocigotos o doblemente heterocigotos (3).

El estado homocigótico para la talasemia β se conoce como talasemia mayor o anemia de Cooley, y el heterocigótico como talasemia menor o rasgo talasémico. Los alelos mutados que producen una ausencia total de cadenas β se conocen como alelos β^0 y normalmente contienen mutaciones sin sentido (nonsense) o mutaciones que alteran el marco de lectura (*frameshift*). Los alelos β^+ son capaces de sintetizar una pequeña cantidad de cadenas β y en la mayoría de los casos son el resultado de mutaciones en las zonas reguladoras o en los sitios de splicing del clúster de la β -globina (1,3).

Dando lugar, en ambos casos, a un exceso de cadenas α , que son menos solubles y precipitan en los interior de los eritroblastos, provocando su muerte prematura y una eritropoyesis ineficaz.

La talasemia mayor o talasemia dependiente de transfusiones es la forma más grave de β -talasemia en la cual la cantidad de cadena β es mínima o nula, y en consecuencia, poca o nula HbA (1).

Los individuos afectados presentan anemia grave y requieren de transfusiones de sangre de por vida. Los síntomas comienzan a manifestarse durante la última etapa de la infancia. Los recién nacidos no presentan síntomas ya que su hemoglobina principal es la hemoglobina fetal (HbF), que utilizan cadenas γ en vez de cadenas β .

Las manifestaciones clínicas pueden ser muy heterogéneas, entre las que destacan la palidez, ictericia, orina oscura, hinchazón abdominal y hepatoesplenomegalia, así como insuficiencia cardíaca, la hematopoyesis extramedular da lugar a anomalías esqueléticas en cara y huesos largos, así como agrandamiento de los riñones. Los síntomas tardíos se relacionan con la sobrecarga de hierro que pueden afectar principalmente al corazón, hígado y órganos endocrinos (1,2).

La mortalidad es elevada sin tratamiento, el cual consiste fundamentalmente en transfusión periódica de sangre y la administración prolongada de quelantes del Fe para evitar su sobrecarga y, en algunos casos, está indicada la esplenectomía para reducir el hiperesplenismo y, en aquellos pacientes menos graves, el trasplante de células hematopoyéticas.

La talasemia intermedia o no dependiente de transfusiones se utiliza para describir a aquellos individuos con un fenotipo menos severo que la talasemia mayor, en la que existe anemia pero no requiere de transfusiones durante la infancia, aunque se puede requerirlas a partir de la tercera-cuarta década de la vida. La edad de presentación es entre los dos a cuatro años de edad. Presentan una sintomatología muy variada, entre las que destaca un grado variable de sobrecarga de hierro, así como osteoporosis,

hematopoyesis extramedular, hipogonadismo, colelitiasis, trombosis, etc.

La talasemia menor suele ser asintomática, aunque algunos individuos pueden presentar anemia leve con marcada microcitosis.

6.2. α -talasemia

La α -talasemia obedece a un defecto en la síntesis total o parcial de cadenas α . Cada cromosoma 16 tiene dos pares de genes α , por lo que la dotación genética normal es $\alpha\alpha/\alpha\alpha$. El principal mecanismo por el que se producen las talasemias α es la delección o pérdida de un gen. A diferencia de la β -talasemia, donde predominan las mutaciones del gen β en zonas relacionadas con la maduración del m-RNA, en la α -talasemia predominan las delecciones de uno o más genes α (2).

Las manifestaciones clínicas de la talasemia α dependen del número de genes delecionados, siendo más frecuentes las formas más graves en el sureste de Asia, y las más leves son frecuentes en los sujetos de raza negra entre quienes constituyen una causa relativamente frecuente de microcitosis.

La delección de uno o dos genes da lugar a las formas leves de α -talasemia, que son las más frecuentes. La delección de un solo gen es totalmente asintomática y sólo puede diagnosticarse mediante técnicas PCR (2). Su única manifestación es una microcitosis moderada con valores de hemoglobina en el rango inferior de normalidad.

La delección de tres genes da lugar a la hemoglobinopatía H (HbH) caracterizada por anemia de intensidad variables y cuerpos de Heinz, que son inclusiones eritrocitarias debidas a la precipitación de la hemoglobina H, que pueden observarse en frotis de sangre periférica con colorante vital.

La delección de cuatro genes o hidropesía fetal es la forma más grave e incompatible con la vida. Al no sintetizarse cadenas α , el feto sólo contiene hemoglobina Bart (HbH), que permiten mantener la vida fetal hasta el final del embarazo, pero no al poder realizarse el cambio hacia la síntesis de HbA, provoca la muerte del feto antes o poco después del nacimiento.

6.3. $\delta\beta$ -talasemia

La $\delta\beta$ -talasemia se caracteriza por un defecto en la síntesis de cadenas δ y β . Genéticamente se debe a amplias delecciones en el cromosoma 11. En estado homocigoto sólo se sintetiza HbF y en el heterocigoto se aprecia un valor elevado de HbF siendo el resto de las restantes fracciones hemoglobínicas normales. Las manifestaciones clínicas sólo se manifiestan en estado homocigoto, dando lugar a una anemia crónica moderada (2).

Tanto la α -talasemia como la β -talasemia se diagnostican en base a los antecedentes familiares, a la electroforesis de hemoglobina mediante cromatografía líquida de alta resolución o HPLC o la detección de mutaciones en el gen de la globina. La electroforesis de hemoglobina permite diferenciar entre una β - y $\delta\beta$ -talasemia, pero no aporta información del tipo de α -talasemia correspondiente, ya que en

una α -talasemia la disminución de la síntesis de cadena α afectaría a las tres hemoglobinas de las que forma parte (HbA, HbF y HbA₂, a excepción de la hemoglobina H y la hemoglobina de Bart, ya que se tratan de hemoglobinas anómalas e inestables (1,4).

La presencia de hemoglobina H puede ser confirmada mediante la tinción vital con brillante de azul de cresilo o azul de metileno; que provocan la precipitación de la HbH en los hematíes, que se observan en forma de inclusiones eritrocitarias de color azul-verdoso.

Para el diagnóstico definitivo de las α -talasemias se requiere el uso de técnicas de biología molecular con el objeto de identificar mutaciones en el gen de la α -globina, como la MLPA (*high resolution ligation-dependent probe amplification*) o la PCR-Gap (4).

6.4. Puntos clave

La talasemia abarca un grupo heterogéneo de anemias microcíticas hereditarias que se caracterizan por una disminución total o parcial en la síntesis de las cadenas de la hemoglobina. Fenotípicamente son muy heterogéneas, desde formas leves o asintomáticas hasta cuadros graves incompatibles con la vida.

Según la cadena de globina cuya síntesis esté afectada, se clasifican en: talasemia α , talasemia β y talasemia $\delta\beta$ -talasemia.

6.5. Bibliografía

1. Benz EJ, Angelucci E. Clinical manifestations and diagnosis of the thalassemias.[Monografía en Internet]. Wolters Kluwer: UpToDate; 2020 [acceso 26 de octubre de 2020]. Disponible en: <http://www.uptodate.com>
2. Hernández García MT, Raya Sánchez JM, Pereira Saavedra A, Vives Corrons JL. Enfermedades de la serie roja: anemias. Farreras Rozman. Medicina Interna, 19ª edición. Barcelona: Elsevier; 2020.p. 1568-1602
3. Wild BJ, Bain BJ. Investigación de las variantes de hemoglobina y de las talasemias. Dacie y Lewis. Hematología práctica, 12ª edición. Barcelona: Elsevier; 2018.p. 282-311
4. Morales-Indiano C. Paciente de 68 años con anemia microcítica e hiperferritinemia. Ed ContLab Clin. 2016; 25:58-73.

7. PROTOCOLO DIAGNÓSTICO DE LAS ANEMIAS MICROCÍTICAS

7.1. Algoritmo diagnóstico de la anemia microcítica

La evaluación inicial del paciente con sospecha de anemia microcítica requiere de una anamnesis y una exploración física cuidadosas. Se deben tener en cuenta los antecedentes familiares (anemia, hemorragias, hemopatías, neoplasias digestivas) y personales (historia digestiva y ginecológica, infecciones repetidas, anemia, antecedentes nutricionales, ingestión de fármacos o alcohol y expo-

sición a tóxicos) así como la presencia de palidez, ictericia, hematomas, adenopatías, hepato y/o esplenomegalia. Así como la realización de pruebas de laboratorio, como hemograma, bioquímica general con función renal, hepática y tiroidea, perfil de hierro y proteína C reactiva (PCR) y realización de frotis de sangre periférica, si es necesario.

La anemia microcítica es la forma más común de anemia, especialmente en niños y adolescentes, que se caracteriza por una síntesis reducida de Hb asociada con una disminución del VCM (<80 fL). Como ya hemos comentado en capítulos previos, es un grupo heterogéneo de enfermedades que pueden ser adquiridas o hereditarias. La causa más frecuente es la anemia ferropénica, seguida de los síndromes talasémicos, mientras que la anemia sideroblástica congénita es muy rara (1).

Es importante diferenciar si la causa es adquirida o hereditaria teniendo en cuenta el valor de la Hb y los índices eritrocitarios.

Si se sospecha que la causa es adquirida hay que confirmar la presencia de anemia ferropénica, ya que es la más frecuente en nuestro medio. El diagnóstico de la anemia ferropénica se detalla en el capítulo 4. De manera resumida, señalar que niveles disminuidos de ferritina es el marcador más fiable de deficiencia de hierro. Diferentes guías proponen diferentes puntos de corte para la ferritina, un nivel inferior a 15 µg/L sería marcador diagnóstico de deficiencia de hierro. Los niveles séricos de hierro y el índice de saturación de transferrina están disminuidos mientras que los niveles de transferrina y la capacidad de fijación del hierro están aumentados. En el hemograma, se observa una anemia microcítica e hipocroma con un número de reticulocitos bajo. En las fases iniciales, el ADE es muy variable, ya que coexisten hematíes normales y de tamaño pequeño. Resaltar que identificar la causa de la deficiencia de hierro es esencial en el procedimiento diagnóstico.

Para realizar un diagnóstico diferencial con respecto a la talasemia es necesario disponer de un estudio completo de hierro. En principio, los niveles de ferritina servirían para diferenciarlas; en la anemia ferropénica se encuentra disminuida mientras que en la talasemia estaría normal o aumentada. En el hemograma se observa un VCM muy disminuido en relación a la anemia, con un aumento en el número de hematíes con el ADE y el número de reticulocitos aumentado, con niveles de hierro normales o elevados, así como niveles normales de transferrina. Sin embargo, en los estadios iniciales de la deficiencia de hierro no es tan sencillo diferenciarlas. La incorporación de nuevos parámetros eritrocitarios en los analizadores hematológicos de nueva generación, como se ha explicado en capítulos anteriores, permite realizar un diagnóstico diferencial más preciso. El diagnóstico definitivo de las talasemias se realiza mediante la electroforesis de hemoglobina y/o técnicas de biología molecular.

La anemia de los trastornos crónicos es la que aparece en el contexto de una enfermedad crónica, como infecciones crónicas, enfermedades inflamatorias y autoinmunitarias, cáncer y nefropatías crónicas. Aunque la anemia de los procesos crónicos es normalmente normocrómica y normocítica, en un 20-50% de los casos se asocia a anemia hipocrómica y microcítica. Goldman Su diagnóstico se realiza por exclusión, anemia moderada o leve que se asocia a niveles de ferritina normales o elevados, niveles disminuidos de hierro y transferrina y niveles elevados de PCR. La determinación de sTfR puede ser útil para diagnosticar una deficiencia de hierro en presencia de anemia de trastornos crónicos (2).

La anemia sideroblástica engloba a un grupo relativamente infrecuente y heterogéneo de anemias tanto de tipo hereditario como adquirida, que se distinguen por la presencia de exceso de hierro mitocondrial en los eritroblastos, que da lugar a la presencia de sideroblastos

Tabla 1. Diagnóstico diferencial de las anemias microcíticas. Modificado de: Sánchez Godoy P, Sánchez Salinas A, Moraleda Jiménez JM. Anemia: concepto, clínica y clasificación. En: Moraleda Jiménez JM, editor. Pregrado de Hematología. 4ª ed. Madrid: Luzán 5; 2017. p. 35-55.

	ANEMIA FERROPÉNICA	ANEMIA ENFERMEDADES CRÓNICAS	TALASEMIA	ANEMIA SIDEROBLÁSTICA
VCM HCM	Disminuido	Normales o bajos	Muy disminuidos en relación a la anemia	Disminuidos en las congénitas, elevados en las adquiridas
Hierro	Disminuido	Disminuido	Normal o elevado	Elevado
Transferrina	Elevada	Disminuida	Normal	Normal
IST	Muy disminuido	Normal o disminuido	Elevado	Elevado
Ferritina	Disminuida	Normal o elevada > 100 mg/dL	Normal o elevada	Normal o elevada > 500 mg/dL
sTfR/Log Ferritina	> 2	< 1	—	—
Depósitos medulares de hierro	Ausentes	Normales o elevados	Normales	Elevados
Sideroblastos en anillo	Ausentes	Ausentes	Ausentes	Presentes
Electroforesis hemoglobinas	Normal	Normal	Alterado	Normal

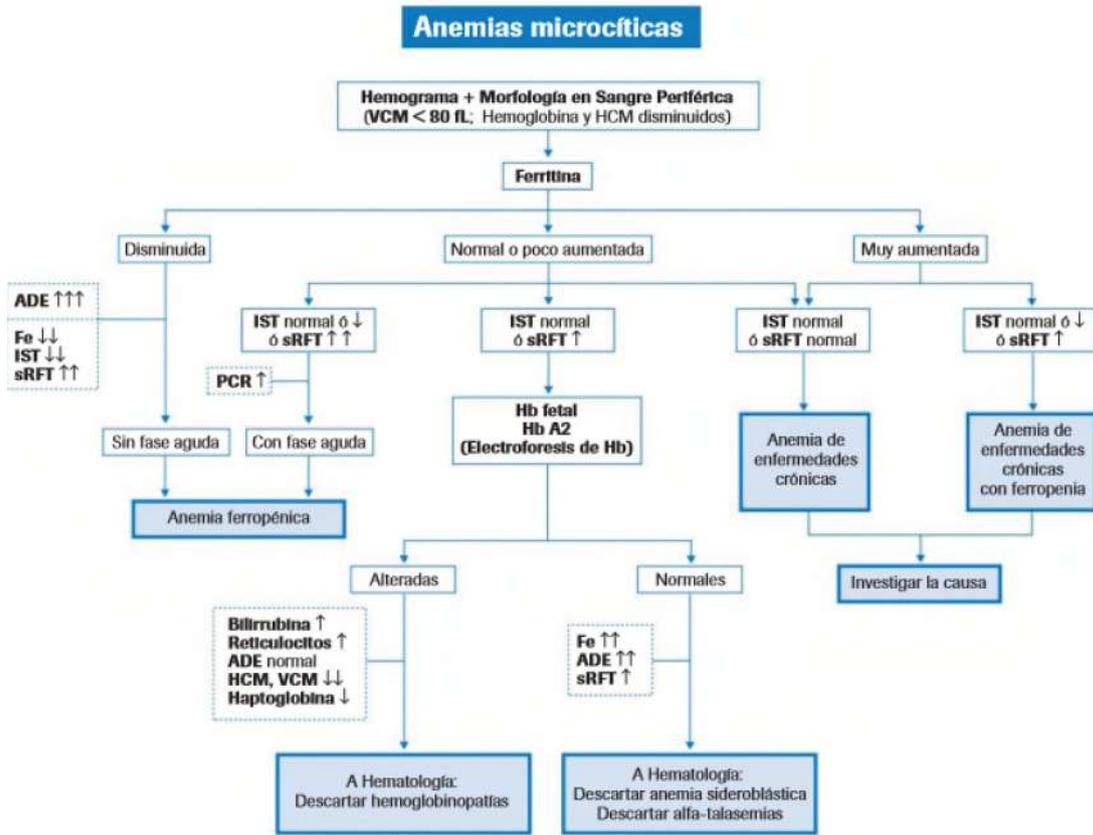


Figura 2. Algoritmo diagnóstico ante una anemia microcítica. Tomado de: Algoritmos. 2 edición con algoritmos nuevos. Roche. 2011. IST: índice de saturación de la transferrina; sRFT: receptor soluble de la transferrina.

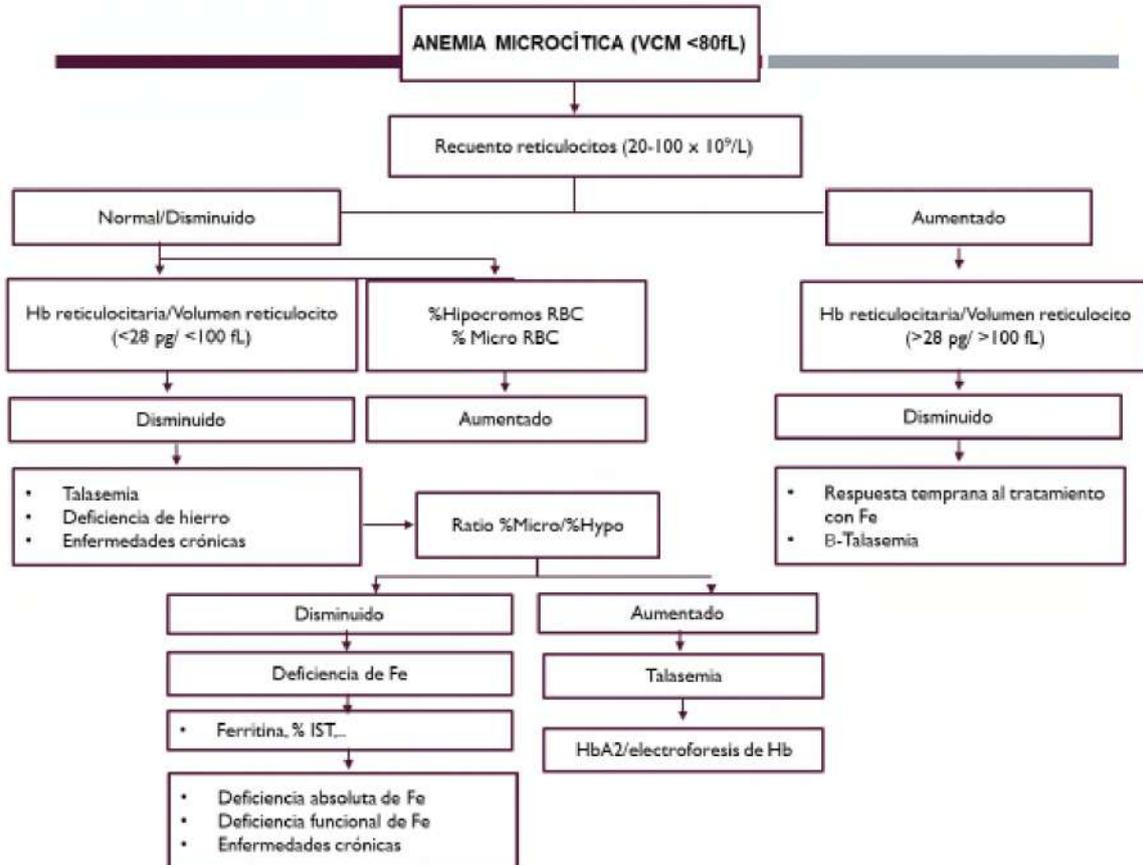


Figura 3. Algoritmo diagnóstico de las anemias microcíticas. Modificado de: Butarello M. Laboratory diagnosis of anemia: are the old and new red cell parameters useful in classification and treatment, how? Int. J Lab. Hematol. 2016; 38 Suppl. 1:123-32.

en anillo cargado de hierro en la médula ósea con anemia moderada o intensa. Estos trastornos se deben a defectos mitocondriales de la síntesis del anillo de porfirinas del grupo hemo o del metabolismo de hierro. El diagnóstico se realiza mediante la tinción de Perls (reacción de azul de Prusia) para el hierro en médula ósea, que demuestra la presencia de hemosiderina de color azul-verdoso en el citoplasma de los eritroblastos. Si el número de gránulos de hemosiderina es superior a 6 y se disponen alrededor del núcleo, se denominan sideroblastos en anillo, característicos de este tipo de anemia (1,2).

En la tabla 1 se resumen los principales hallazgos de laboratorio de los diferentes tipos de anemia microcítica:

A continuación, se incluyen diversos algoritmos diagnósticos propuestos para la anemia microcítica, que utilizan el VCM y/o los nuevos parámetros de la serie roja (Figura 2).

7.2. Bibliografía

1. Camaschella C. Microcytic and hypochromic anemias. Goldman-Cecil Medicine, 26th edition. Philadelphia: Elsevier; 2020. p.1035-1040.
2. Ginder GD. Anemias microcíticas e hipocrómicas. Goldman-Cecil. Tratado de medicina interna, 25ª edición. Barcelona: Elsevier; 2017. P. 1068-1073.