



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA

“EVALUACIÓN DEL VOLUMEN CORPUSCULAR MEDIO ESFEROCITICO (VCME)
COMO UN INDICADOR PRIMARIO DE ESFEROCITOSIS HEREDITARIA EN EL
LABORATORIO”

TESINA

QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE LA ESPECIALIZACIÓN EN

BIOQUÍMICA CLINICA

PRESENTA:

QFB ANDREA RODRÍGUEZ SÁNCHEZ

ASESOR DEL TEMA:
EBC. LINA TERESA ROMERO GUZMÁN



MÉXICO, D.F.

2012



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado Asignado

Presidente: Dr. Ricardo Gamboa Ávila

Vocal: M en C. Guadalupe Ortiz López

Secretario: Dr. Julio Granados Arriola

Primer Suplente: EBC. Ana Margarita Zavala Ortiz

Segundo Suplente: Dra. Rosa María Bernal Redondo

Trabajo realizado en el Instituto Nacional de Pediatría, Laboratorio de Hemato-Oncología.

Asesor del Tema:

EBC. Lina Teresa Romero Guzmán

Sustentante:

QFB. Andrea Rodríguez Sánchez

AGRADECIMIENTOS

A la EBC Lina Teresa Romero por sus conocimientos, facilidades, apoyo y siempre amable guía en la realización de esta tesina.

A la QFB Fabiola Mujica y el personal del laboratorio de Hemato-oncología, por permitirme aprender y trabajar con ellos.

Al Instituto Nacional de Pediatría, sus pacientes y su valioso personal, que gracias a ellos este trabajo fue posible.

A los sinodales por el tiempo tomado para leer y enriquecer esta tesina: Dr. Ricardo Gamboa Ávila, M en C. Guadalupe Ortiz López, Dr. Julio Granados Arriola, EBC. Ana Margarita Zavala Ortiz y la Dra. Rosa María Bernal Redondo.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por las oportunidades brindadas para dar continuidad a mi camino académico.

DEDICATORIAS

A mis Toños

Rdz M. Por darme la vida,
el amor y las armas con las
que hoy puedo enfrentarme al mundo.

Rdz S. Por ser mi compañero desde el día en que
llegué, de alegrías, tristezas peleas y siempre estar al pendiente de mí.
Olvera. El amor de mi vida, amigo e inspiración para cerrar este ciclo e iniciar uno nuevo.

A mis mujeres

"Cada día sabemos más y entendemos menos"

Albert Einstein

Mamá mi más grande amor,

amiga, guía y el motor de mi vida.

Lety amiga, tía y segunda madre, gracias
por abrirme las puertas de tu casa y corazón.

A mi familia

Los que están

"La ciencia más útil es aquella cuyo fruto es el más comunicable"

Los que ya no están

Leonardo Da Vinci

Y los que se encuentran muy lejos.

Amigos

Tatiana y Cynthia compañeras y amigas de generación,
juntas emprendimos este viaje y llegamos al final!!! Gracias por todo.
A todos los buenos amigos de Saltillo que me llenaron de sus mejores vibras
y a la distancia siempre me recuerdan y forman parte de mis pensamientos.

INDICE

Abreviaturas	i
I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN	2
2.1. GENERALIDADES	2
2.1.1. Antecedentes Históricos	2
2.1.2. Epidemiología de la EH	3
2.1.3. Bioquímica y estructura de la membrana del eritrocito normal	4
2.1.4. Defectos de la membrana del eritrocito	5
2.2. ESFEROCITOSIS HEREDITARIA	7
2.2.1. Fisiopatología de la EH	7
2.2.2. Clasificación clínica de la EH	10
2.2.3. Diagnostico diferencial	14
2.3. PRUEBAS DE LABORATORIO	15
2.3.2. Hemograma completo	16
2.3.3. Otros valores de laboratorio	17
2.3.4. Prueba de fragilidad osmótica para la EH.	17
2.4. TRATAMIENTO	19
2.5. FUNDAMENTO DEL EQUIPO, TECNOLOGIA DEL MODELO LH-750	21
2.6. VOLUMEN CORPUSCULAR MEDIO ESFEROCÍTICO	23
III. JUSTIFICACION	25
IV. HIPOTESIS	25

V. OBJETIVO	26
5.1 General	26
5.2 Particulares	26
VI. MATERIALES Y MÉTODOS	27
6.1 Descripción del estudio	28
6.2 Análisis Estadístico.	28
6.3 Estrategia de trabajo	29
VII. RESULTADOS	30
VIII. DISCUSIÓN	43
IX. CONCLUSIONES	45
X. BIBLIOGRAFIA	46

ABREVIATURAS

BH	Biometría Hemática.
VCM	Volumen Corpuscular medio
VCME	Volumen Corpuscular Medio Esferocítico
EH	Esferocitosis Hereditaria
CHCM	Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media
RDW	Índice de Distribución de Eritrocitos
INP	Instituto Nacional de Pediatría
NaCl	Cloruro de Sodio
fL	Femtolitro
Q1	Cuartil 1
Q3	Cuartil 3
M	Mediana
Min	Mínimo
Máx	Máximo

I. RESUMEN

La esferocitosis hereditaria (EH) es un desorden hemolítico caracterizado por anemia, ictericia intermitente y esplenomegalia. Se ha demostrado la utilidad del volumen corpuscular medio esferocítico (VCME), en comparación con el volumen corpuscular medio (VCM) en la detección de las anemias hemolíticas. Nuestro objetivo fue evaluar el volumen corpuscular medio esferocítico para saber si era confiable y útil como prueba de escrutinio para la detección de esferocitosis hereditaria. Se estudió una población pediátrica (n=90) en el Instituto Nacional de Pediatría. Se analizaron muestras de 30 niños sin alteraciones en la biometría hemática (grupo control), 30 niños con EH y 30 niños con cualquier anemia diferente a EH. Las determinaciones de la BH, se realizaron con el Analizador Hematológico LH750 de Beckman Coulter con un principal interés en los parámetros VCM y VCME. Se hizo un análisis de la curva ROC y se determinó el valor de corte del delta $(VCM-VCME)= 9.6$, obteniéndose una especificidad del 87.8% y una sensibilidad del 96.2% para EH. Nuestro estudio sugirió que el parámetro VCME es confiable como prueba de escrutinio para la detección de EH cuando su valor es > 9.6 fL. El VCME no puede sustituir a la prueba de fragilidad osmótica en la confirmación del diagnóstico, pero las pruebas presuntivas pueden apoyar una mejor toma de decisiones y a un diagnóstico más oportuno sobre todo en casos leves de la enfermedad.

II. INTRODUCCIÓN

La esferocitosis hereditaria (EH) es un desorden hemolítico caracterizado por anemia, ictericia intermitente y esplenomegalia. La EH es debida a un defecto intrínseco de la membrana del eritrocito, con eritrocitos densos, osmóticamente frágiles y esféricos que son atrapados selectivamente en el bazo. Usualmente la clínica, la historia familiar, el hemograma con la observación del frotis de sangre periférica y una prueba de Coombs negativa permiten plantear el diagnóstico; confirmándolo con la prueba de fragilidad osmótica.⁴

En 1999 Chiron y colaboradores demostraron la utilidad del volumen corpuscular medio esferocítico (VCME), un volumen artificial evaluado durante el procedimiento de recuento de reticulocitos en condiciones hipo-osmóticas, en comparación con el volumen corpuscular medio (VCM) en la detección de las anemias hemolíticas usando un analizador hematológico marca Coulter modelo GEN.S.⁹

2.1. GENERALIDADES

2.1.1. Antecedentes Históricos

La EH se describió en 1871 por 2 médicos belgas, Vanlair y Masius, cuando estudiaron a una paciente joven que presentaba dolor abdominal, esplenomegalia asociada con ictericia, vómitos, anemia y marcada atrofia muscular. Los investigadores notaron que los glóbulos rojos tenían una forma esférica y mucho más pequeña que los normales, demostraron que el bazo estaba involucrado en el envejecimiento de estas células y denominaron a esta enfermedad “microcitemia”.

Veinte años después fue redescubierta por Wilson y Minkowsky, quienes registraron 8 casos en 3 generaciones diferentes de una misma familia.

La mayor contribución al conocimiento de esta enfermedad fue hecha por los hallazgos de Chauffard, el cual confirmó el aumento de la fragilidad osmótica de los eritrocitos, lo que explicaba la anemia hemolítica encontrada en estos casos. Observó también cómo se producía la corrección de la hemólisis con la esplenectomía, y demostró la implicación del bazo en esta entidad. Posteriormente se encontró que los glóbulos rojos de pacientes con EH presentaban una disminución de Na⁺ intracelular y una pérdida de lípidos de la membrana, lo que explicaba la disminución del área superficial de la célula. Por estos estudios la entidad se conoce también como enfermedad de Minkowsky-Chauffard.

Después de la década de los años 70, con el desarrollo de nuevas técnicas, se encontraron las primeras alteraciones bioquímicas de las proteínas de la membrana eritrocitaria y a partir de 1985, por medio de las técnicas del ADN recombinante, se han podido precisar las alteraciones moleculares en un número importante de casos.¹⁷

2.1.2. Epidemiología de la EH

La EH es la más común de las anemias hereditarias hemolíticas entre descendientes de europeos. En los Estados Unidos la incidencia es aproximadamente 1 en 3,000 a 5,000. Cuando se consideran las formas leves y asintomáticas de la enfermedad, la incidencia es cercana a 1:2000. La enfermedad se encuentra en todo el mundo, pero su incidencia y prevalencia en otros grupos étnicos no está claramente establecido.

La EH en México es una enfermedad frecuente en población seleccionada por anemia hemolítica (31.3%). Suele heredarse de manera autosómica dominante, aunque raramente, puede ser autosómica recesiva. Además puede ser el resultado de mutación espontánea. En cerca del 25% de los casos ninguno de los progenitores está afectado.⁸

2.1.3. Bioquímica y estructura de la membrana del eritrocito normal

Para la supervivencia de la célula es esencial una membrana eritrocitaria normal, tanto en estructura como en función. La membrana del eritrocito está compuesta por una bicapa lipídica y proteínas integrales unidas a un citoesqueleto proteico. Es responsable de mantener la estabilidad y la forma discoide normal de la célula, de preservar su deformabilidad, de conservar su permeabilidad selectiva y funciona como barrera para separar las concentraciones inmensamente diferentes de iones y metabolitos del interior del eritrocito de su ambiente externo, el plasma sanguíneo. El citoesqueleto confiere a las células sus propiedades mecánicas como la deformación elástica al pasar por capilares de diámetro inferior al de las células. Está conformado por aproximadamente 15 proteínas principales e innumerables proteínas menores, que se dividen en 2 grupos: a) proteínas integrales de la membrana que incluyen la proteína intercambiadora de aniones (también llamada proteína 1 o banda 3), y las glicoforinas que portan antígenos de superficie glicoprotéicos; y b) proteínas periféricas de la membrana citoplasmática, que incluyen proteínas estructurales como espectrin, ankirinas, actinas y enzimas eritrocitarias.

El citoesqueleto eritrocitario es una malla bidimensional formada por tetrámeros de espectrina, unidos por la proteína 4.1 y filamentos cortos de actina y desmina unidos a las glicoforinas (Ver figura 1). Esta malla se enlaza a la membrana por la unión de las espectrinas a las anquirinas y éstas a la banda 3 a través de la interacción entre la proteína 4.2. El citoesqueleto es el principal determinante de la forma, fuerza y flexibilidad del eritrocito y ayuda a controlar la organización lipídica, la movilidad de las proteínas integrales y su topografía.

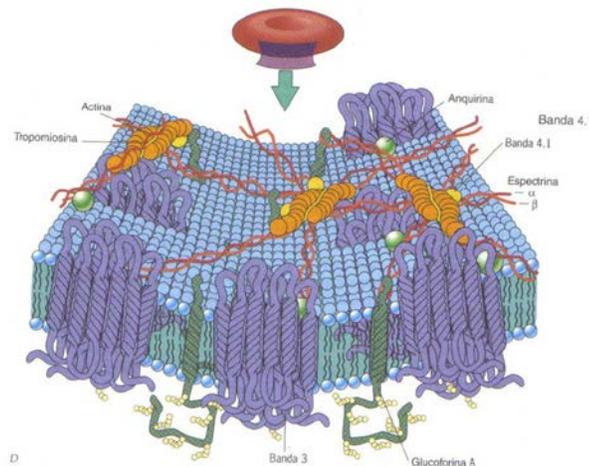


FIGURA 1. Membrana del eritrocito.

Fuente: <http://biolcelmembrana.blogspot.mx/2009/11/membrana-del-eritrocito.html>

2.1.4. Defectos de la membrana del eritrocito

El periodo de vida del eritrocito puede acortarse notablemente cuando la célula es intrínsecamente defectuosa (defecto intracorpúscular). La naturaleza intrínseca del defecto del eritrocito puede demostrarse por medio de transfusión de células normales al paciente. Estos eritrocitos transfundidos tienen un periodo de vida

normal. Por el contrario, si se transfunden eritrocitos del paciente a un individuo normal, los eritrocitos del paciente tienen un periodo de vida acortado.

Las proteínas que con mayor frecuencia se han visto asociadas con Esferocitosis Hereditaria son:

- a) Banda 3 o Proteína intercambiadora de aniones.
- b) Espectrinas (α y β).
- c) Ankirinas.
- d) Proteína 4.1.
- e) Proteína 4.2 ó Pallidina.

Se conoce el peso molecular de al menos 20 proteínas de membrana, para 18 de ellas se sabe su localización cromosómica y en 10 ha sido analizada la secuencia de ADN.⁴ (Ver figura 2).

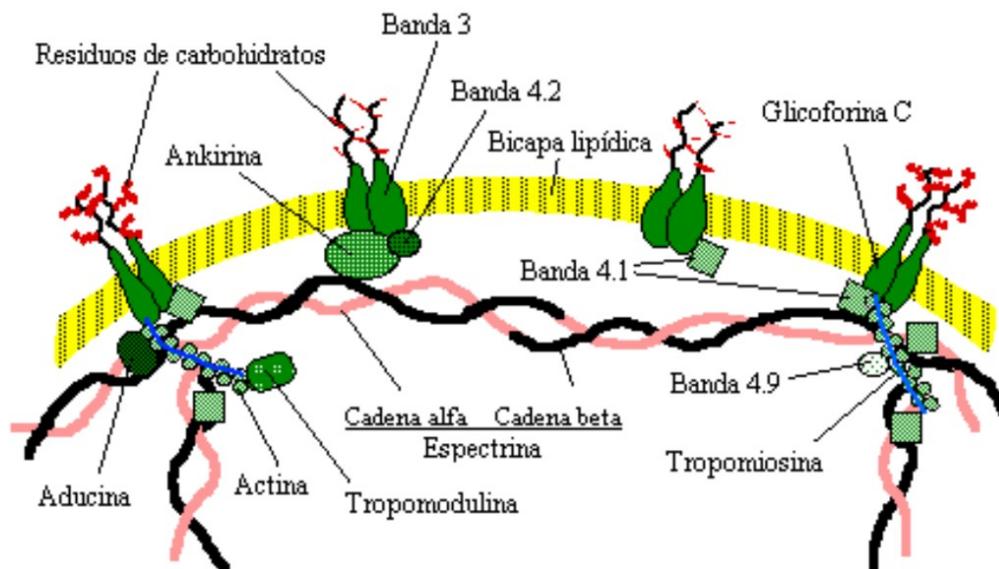


FIGURA 2. Organización de la membrana eritrocitaria.
Red de proteínas de membrana asociadas con el citoesqueleto.
Fuente: <http://biolcelmembrana.blogspot.mx/2009/11/membrana-del-eritrocito.html>

2.2. ESFEROCITOSIS HEREDITARIA

2.2.1. Fisiopatología de la EH

Los defectos moleculares primarios de la EH residen en las proteínas del citoesqueleto, sobre todo en la que conectan el citoesqueleto a la bicapa lipídica.

El defecto de la membrana es un trastorno de la interacción de proteína vertical que se caracteriza con mayor frecuencia por una deficiencia de espectrina. La deficiencia de espectrina puede ser una deficiencia primaria o una deficiencia secundaria a causa de adhesión defectuosa del esqueleto a la bicapa lipídica. La adhesión defectuosa puede producirse por una disfunción en la proteína 4.2, anquirina, proteína banda 3, o por la presencia de una molécula de espectrina anormal incapaz de enlazarse a la proteína 4.1. La intensidad de la hemólisis se correlaciona directamente con el grado de deficiencia de la espectrina.

Estos defectos en la espectrina y sus interacciones con otras proteínas esqueléticas, causan debilitamiento de las conexiones verticales entre las proteínas esqueléticas y la membrana lipídica de doble capa. Se ha establecido la hipótesis de que el desacoplamiento entre el esqueleto de la membrana interior y la bicapa lipídica exterior conduce a la pérdida de esta última bajo la forma de micro vesículas. De manera secundaria a la pérdida de la membrana, la célula tiene una proporción entre el área de superficie y el volumen disminuido y cambia su morfología de un discocito a un esferocito. Las células más esferoidales tienen un aumento considerable en la viscosidad citoplasmática. La forma esferoidal y el aumento en la viscosidad resultan en la reducción de la flexibilidad celular. Los reticulocitos en la EH son de forma

normal, lo cual recalca el hecho de que los eritrocitos pierden sus fragmentos de membrana después de enfrentarse al estrés de la circulación.

Además del citoesqueleto anormal en los eritrocitos en la EH, pueden presentarse otras anomalías de la membrana. La membrana del eritrocito en la EH tiene disminución en los lípidos totales tanto antes como después de la esplenectomía. Aunque se tiene conocimiento de que la organización de los lípidos en la membrana aumenta su fluidez, no se ha establecido un vínculo entre la fluidez anormal y los eritrocitos de la EH. Estos también son anormalmente permeables al sodio, lo que causa un flujo de Na^+ a una tasa 10 veces mayor que la normal. El escape puede ser compensado con un aumento en la actividad de la bomba de cationes si se dispone de suficiente glucosa para la producción del ATP. El aumento de la permeabilidad probablemente está vinculado con una anomalía funcional de las proteínas de la membrana. La forma esferocítica, el aumento de la viscosidad citoplasmática, y el incremento de la permeabilidad de la membrana, explican la destrucción final de las células de EH en el bazo. Los esferocitos carecen de la flexibilidad de las células normales, lo cual hace que queden atrapados en los cordones esplénicos. En este ambiente de concentración muy escasa de glucosa, la célula agota rápidamente el ATP necesario para bombear hacia afuera el exceso de Na^+ . Al cesar la producción de energía, las células con fatiga metabólica son destruidas por los macrófagos esplénicos.²⁰

El bazo secuestra en forma selectiva los esferocitos de la EH, cuando estos son oprimidos al atravesar los espacios entre las células endoteliales de los senos venosos, como estos esferocitos se desplazan más despacio a través de las

fenestraciones elípticas estrechas de los sinusoides esplénicos- más pequeñas que los eritrocitos- , son especialmente susceptibles a una pérdida adicional de membrana y se deterioran tanto que son eliminados selectivamente por los macrófagos de la pulpa roja del bazo. El mecanismo de este condicionamiento y destrucción esplénicos de los eritrocitos de la EH no es bien conocido; se han formulado varias hipótesis para explicarlo²⁰. (Ver Figura 3).

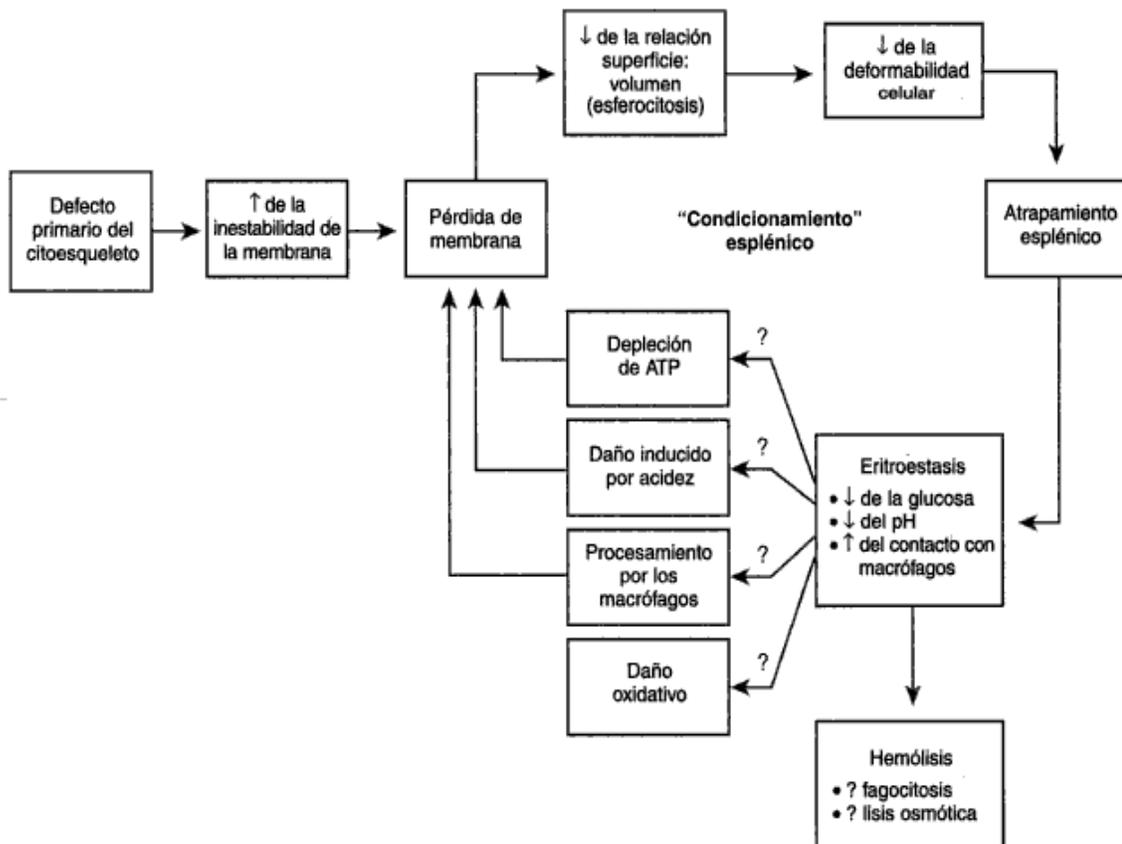


Figura 3. Fisiopatología del condicionamiento esplénico y de la destrucción de los esferocitos hereditarios. (Modificado de Becker PS, Lux SE: Disorders of the red cell membrane. En Nathan DG, Oski FA [eds]: Hematology of Infancy and Childhood, 4 ed. Filadelfia: WB Saunders, 1993:529-633.)

2.2.2. Clasificación clínica de la EH

La gravedad clínica de la EH varía entre las familias y aun entre pacientes de la misma familia. Cerca del 25% de los pacientes tiene enfermedad hemolítica compensada, no presenta anemia, la ictericia es reducida o está ausente y solo la esplenomegalia leve. En contraste, unos cuantos pacientes son intensamente anémicos; la ictericia neonatal es común en este grupo. Sin embargo, la mayoría de los pacientes desarrolla una anemia hemolítica parcialmente compensada en la infancia, y pueden ser asintomáticos. Es posible que la EH en algunos pacientes asintomáticos solo se detecte cuando se practican estudios familiares en pacientes con variantes más intensas de la enfermedad.

Los individuos con esferocitosis hereditaria se clasifican en portadores silenciosos, leves, moderados, ligeramente graves y graves:

A) Los portadores silenciosos son padres de pacientes con EH “no dominante” o recesiva; están asintomáticos: no presentan anemia, esplenomegalia, hiperbilirrubinemia ni esferocitosis. Pueden tener signos de laboratorio de EH sutiles, con una ligera reticulocitosis, niveles bajos de haptoglobina y una fragilidad osmótica ligeramente elevada.

B) La EH leve se encuentra en el 20 al 30% de los pacientes con una hemolisis compensada, en la que la producción y destrucción de eritrocitos están equilibradas. El recuento de reticulocitos de estos pacientes por lo general es menor del 6% y solo el 60% de los pacientes tiene una esferocitosis importante. La hemolisis puede ser

más grave durante las enfermedades que causan esplenomegalia como la mononucleosis infecciosa, y en el embarazo y el ejercicio.

C) De dos tercios a tres cuartas partes de los pacientes tienen EH leve a moderada, con hemólisis parcialmente compensada y anemia leve a moderada, habitualmente asintomática excepto por la fatiga y la palidez. En alrededor de la mitad de estos pacientes, en algún momento se observa ictericia, habitualmente durante las infecciones virales.

D) Alrededor del 5 al 10% de los pacientes con EH tiene anemias ligeramente graves a graves. En la enfermedad ligeramente grave los valores de hemoglobina se encuentran entre 6 y 8 mg/dL y los recuentos de reticulocitos alrededor del 10%. Tanto las formas dominantes, como las recesivas de EH están en esta categoría. Los pacientes con enfermedad grave tienen por definición una anemia potencialmente fatal y dependen de las transfusiones. Casi todos tienen EH recesiva y a menudo también algunos esferocitos de contorno irregular o con brotes, además de los esferocitos típicos en el extendido de sangre.

Aunque la mayoría de los pacientes tiene una hemólisis compensada y raras veces son sintomáticas, las complicaciones pueden requerir intervención médica. Los pacientes pueden sufrir diversas crisis, clasificadas como hemolíticas, aplásicas y megaloblásticas. Las hemolíticas son las más frecuentes, pero por lo general no son graves. A menudo se asocian con síndromes virales y los niños pueden desarrollar ictericia transitoria. Durante las infecciones virales, a menudo causadas por el

parvovirus B19 (denominada quinta enfermedad de la infancia) que invade las células progenitoras hematopoyéticas e inhibe su crecimiento, el funcionamiento de la médula ósea puede disminuir (crisis aplásicas) y en los pacientes pequeños suele presentarse con rapidez una anemia grave. Estas crisis se observan en los primeros 6 años de vida. Muchos pacientes con EH también pueden tener una deficiencia de ácido fólico como resultado del aumento de los requerimientos de esta vitamina, debido a la producción celular, aumentada en forma crónica, en la médula ósea. Este fenómeno se denomina crisis megaloblástica y es particularmente aguda durante el embarazo y en la recuperación de una crisis aplásica. Con bastante frecuencia, sin embargo, la médula ósea compensa bien el aumento de destrucción; por consiguiente la EH es posible que se detecte hasta la vida adulta, cuando aumenta la esplenomegalia por la mayor hemólisis y menor compensación de la médula ósea, lo que produce ictericia o anemia. Los adultos pueden presentarse con una ictericia importante de comienzo súbito, causada por cálculos de pigmento (bilirrubinato), que es la manifestación de un proceso hemolítico crónico y estos cálculos tienden a ocluir el colédoco. Finalmente algunos pacientes pueden presentar síntomas en la vejez, cuando es normal que la función de la médula ósea disminuya. La compensación por la destrucción se reduce y la anemia se agrava. En el 10 al 15% de los pacientes adultos puede observarse ulceración crónica de la piel del tobillo. (Ver tabla 1).

Tabla 1. Clasificación clínica de la EH

	Portador Silencioso	Leve	Moderada	Ligeramente grave	Grave
Hemoglobina (g/dL)	Normal	11-15	8-12	6-8	<6
Reticulocitos (%)	1-3	<6	≥8	≥10	≥10
Bilirrubina (mg/dL)	0-1	3-8	≥2	2-3	≥3
Extendido de sangre periférica	Normal	Pocos esferocitos	Esferocitosis evidente	Esferocitosis evidente	Esferocitosis y poiquilocitosis
Fragilidad osmótica					
Sangre fresca	Normal	Normal o ligeramente aumentada	Muy aumentada	Muy aumentada	Muy aumentada
Sangre incubada	Ligeramente aumentada	Muy aumentada	Muy aumentada	Muy aumentada	Notablemente aumentada
Otros	Padres de pacientes con EH "no dominante"	Hemólisis compensada que puede agravarse durante la enfermedad	Hemólisis parcialmente compensada	Incluye EH recesiva y dominante	Dependiente de transfusiones, habitualmente EH recesiva

Fuente: Rodack, F. Bernadette. Hematología fundamento y aplicaciones clínicas.

2.2.3. Diagnostico diferencial

La forma típica de EH puede ser diagnosticada fácilmente, aunque deben descartarse otras causas de anemia hemolítica esferocítica tales como la anemia hemolítica autoinmune (prueba de Coombs), hemoglobinas inestables (electroforesis de hemoglobina, cuerpos de Heinz, etc.), la estomatosis hereditaria y el síndrome del Rh nulo, entre otras. Durante el período neonatal, es difícil diferenciar la EH de la incompatibilidad ABO, en la que la esferocitosis es evidente. En estos casos, es imprescindible el estudio familiar, así como una reevaluación del niño entre los 4 y 6 meses de nacido. No obstante, los esferocitos de la EH son distinguibles de las anemias hemolíticas autoinmunes por la uniformidad de éstos, así como por el aumento de la concentración media de hemoglobina corpuscular (CHCM).

Se presentan también dificultades diagnósticas en los pacientes que debutan con una crisis aplásica. Al inicio, la naturaleza de los síntomas sugiere la aparición de un proceso adquirido y la ausencia de reticulocitos puede enmascarar el diagnóstico de la anemia hemolítica. También se puede confundir el diagnóstico cuando la EH se asocia con otras enfermedades que elevan la relación volumen/superficie, tales como la deficiencia de hierro o el íctero obstructivo. La deficiencia de hierro normaliza la fragilidad anormal y la forma de los esferocitos, pero no mejora la sobrevida de éstos. En el íctero obstructivo desaparece la esferocitosis, debido a la acumulación de colesterol y fosfolípidos en la membrana celular. En individuos normales, este proceso conlleva a la formación de células en forma de diana, mientras que en la EH las células adoptan una forma discoidal y se incrementa la sobrevida de las células.

La b-talasemia heterocigótica y algunas enzimopatías, también pueden interferir en el diagnóstico de la EH.

Debido al curso asintomático de esta enfermedad en muchos pacientes, debe descartarse la presencia de una EH en aquellos casos con síntomas aislados tales como esplenomegalia, íctero, litiasis vesicular en el adulto joven, anemias como resultado de mononucleosis infecciosa u otras infecciones severas y durante el embarazo.

Ocasionalmente se pueden observar esferocitos en pacientes con marcada esplenomegalia (cirrosis y mielofibrosis) o en pacientes con anemias microangiopáticas, pero el diagnóstico diferencial de estas entidades no presenta grandes dificultades.

El estudio familiar es muy importante en el diagnóstico diferencial, sobre todo para poder precisar el carácter hereditario de la anemia, ya que las pruebas empleadas para el diagnóstico de la EH pueden ser positivas en muchas de las patologías mencionadas anteriormente.¹⁷

2. 3. PRUEBAS DE LABORATORIO

Las características de laboratorio clásico de EH incluyen anemia, reticulocitosis, aumento de la CHCM, esferocitos en el frotis de sangre periférica, la hiperbilirrubinemia y una prueba de fragilidad osmótica positiva.

2.3.1. Morfología del extendido de sangre. La característica distintiva de la EH son los esferocitos en el extendido de sangre periférica. Cuando se encuentran en pacientes con anemia hemolítica de la infancia y antecedentes familiares de

anomalías similares, los esferocitos son muy sugestivos de EH. Vistas bajo el microscopio estas células muestran una cantidad elevada de células uniformemente redondas. Algunas de estas son microesferocitos; eritrocitos pequeños, redondos y densos, llenos de hemoglobina y sin palidez central. Cuando se examinan en un preparado en fresco o por microscopía electrónica, muchos eritrocitos de la EH pueden parecerse más a estomatocitos o esferoestomatocitos. También se ven eritrocitos de aspecto normal, junto con otros difusamente basófilos (policromáticos), así como grados variables de anisocitosis y poiquilocitosis.

2.3.2. Hemograma completo.

La anomalía más llamativa que se ve en el hemograma es el aumento de la concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM), más de 36% en alrededor del 50% de los pacientes. En algunos de los pacientes puede llegar al 400% o más. Es probable que esta anomalía sea el resultado de la deshidratación de las células que han pasado por el bazo, y tienen niveles bajos de agua y potasio. Este aumento de la destrucción en la EH habitualmente se compensa y la anemia, si está presente es leve. La hemoglobina, el hematocrito y los recuentos eritrocitarios reflejan este equilibrio entre hemólisis y compensación. La hemoglobina casi siempre se encuentra entre 12 y 18 g/dL, pero varía entre individuos. El volumen corpuscular medio (VCM) y la CHM son normales, pero también pueden variar. El recuento de reticulocitos por lo común es del 5 al 20% pero puede ser más elevado, sobre todo durante la recuperación de las crisis aplásicas. La amplitud de distribución de los eritrocitos (RDW) suele ser normal, pero puede estar aumentado con recuentos

elevados de reticulocitos. Durante la crisis aplásica, la hemoglobina, el hematocrito, los valores de reticulocitos y los recuentos de eritrocitos disminuyen en forma espectacular.

2.3.3. Otros valores de laboratorio.

La medula ósea de la EH muestra hiperplasia eritroide, como resultado del aumento de producción necesario para compensar la vida media corta de los eritrocitos circulantes. La morfología de los precursores eritrocitarios es normal, porque el defecto morfológico se adquiere en la circulación.

Los valores del perfil químico reflejan la hemólisis extravascular. El nivel de bilirrubina no conjugada (indirecta) está elevado de forma leve a moderada, el nivel de urobilinógeno fecal es alto y los niveles de haptoglobina están disminuidos. Los valores asociados con la hemólisis intravascular, o sea la hemoglobinemia, la hemoglobinuria y la hemosiderinuria no son característicos de la EH.²⁰

2.3.4. Prueba de fragilidad osmótica para la EH.

La prueba de fragilidad osmótica es la prueba principal de confirmación del diagnóstico de EH. Esta prueba es una medida de la resistencia del eritrocito a la hemólisis por estrés osmótico, la cual depende principalmente del volumen de la célula, del área de superficie y de la función de su membrana. Los eritrocitos se incuban en soluciones hipotónicas de cloruro de sodio (NaCl) de concentraciones variables. Al disminuir la concentración de NaCl, los eritrocitos absorben agua en un esfuerzo para conservar o para lograr el equilibrio osmótico, y las células se hinchan

hasta que se forma un esferocito. La captación adicional de agua produce una membrana porosa que permite la liberación de hemoglobina (hemólisis). Las células normales comienzan a hemolizar a concentraciones de NaCl cercanas a 0.50%, y la hemólisis es completa a una concentración aproximada de 0.30% de NaCl. Debido a la disminución en la proporción de superficie a volumen, los esferocitos son incapaces de expandirse tanto como las células normales de forma discoide. Se necesita absorber muy poco líquido antes que las células se hemolicen. Los esferocitos también tienen aumento en la permeabilidad de la membrana, la cual contribuye al aumento de la fragilidad. Por tanto la lisis de los eritrocitos de la EH comienza a concentraciones de NaCl mayores y se completa entre las de 0.5 a 0.4%. Se dice que estas células de la EH exhiben aumento en la fragilidad osmótica.

La prueba de fragilidad osmótica es normal a menos que los esferocitos constituyan de 1 a 2% de la población de eritrocitos; por tanto es posible que los pacientes con EH leve tengan una fragilidad osmótica normal. No obstante estas células muestran una hemólisis anormal muy notable cuando la sangre se incuba durante la noche (24 horas) a 37°C antes de agregarse a la solución de NaCl. Debido al aumento en su sensibilidad, esta prueba de fragilidad osmótica incubada es la prueba diagnóstica más confiable de la esferocitosis hereditaria. (Ver figura 4).

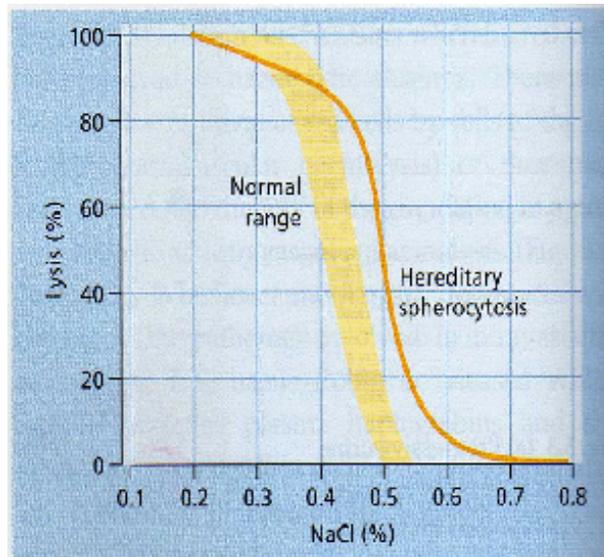


Figura 4. Curva de la Fragilidad Osmótica

- La curva normal es la que muestra mayor dispersión.
- Es el porcentaje de lisis, todos los eritrocitos se van a romper en la solución al 0,2% y en rangos fisiológicos no hay lisis.
- En el caso de las esferocitosis hereditarias, hay lisis con concentraciones muy cercanas a las fisiológicas.

2.4. TRATAMIENTO

A efectos prácticos, el tratamiento de la EH gira en torno a la atención de apoyo, la esplenectomía y tratamiento de las complicaciones tras la esplenectomía.

La esplenectomía impide la hemólisis clínicamente importante y los pacientes con enfermedades no complicadas siempre responden a este tratamiento. Además de resolver la anemia, la esplenectomía previene la enfermedad vesicular sintomática esto es importante debido a los riesgos asociados con la cirugía de vesícula, sobre todo en el anciano. El principal riesgo de la esplenectomía es la sepsis, que puede ser potencialmente fatal. Después de la esplenectomía, los lactantes y los niños pequeños son más susceptibles a las infecciones, especialmente a la septicemia

neumocócica; por consiguiente, la cirugía por lo general se pospone hasta los 5 a 9 años de edad, a menos que la anemia sea potencialmente fatal. Incluso en esos casos la esplenectomía debe evitarse antes de los 3 años de edad. En los pacientes mayores, el riesgo de la cirugía para prevenir la hemólisis persistente y los cálculos biliares de pigmento puede ser superior a los beneficios, aun así, algunos investigadores recomiendan la esplenectomía para todos los pacientes con EH y anemia, hemólisis importante (manifiesta por recuentos de reticulocitos seriados mayores a 5%) o con antecedentes familiares importantes de enfermedad vesicular. La esplenectomía puede diferirse en forma indefinida en las pacientes con EH leve y hemólisis compensada.

Después de la esplenectomía es posible observar esferocitos en el extendido de sangre, pero los esferocitos condicionados, detectados por el cambio de fragilidad osmótica, desaparecen. También persisten todos los cambios morfológicos típicos de los eritrocitos, incluso los cuerpos de Howell-Jolly, las células blanco, los siderocitos y los acantocitos. Los reticulocitos disminuyen a niveles altos dentro de los valores normales y la anemia habitualmente se corrige con valores de hemoglobina en el intervalo normal, cursa con leucocitosis y trombocitosis. El nivel de bilirrubina disminuye, pero puede permanecer en valores altos dentro del rango normal. A veces durante la esplenectomía puede haber un autotrasplante accidental de tejido esplénico. La hemólisis puede reaparecer después de años. La reanudación de la función esplénica se manifiesta en el extendido de sangre periférica por el aumento de la cantidad de eritrocitos con cavidades.²⁰

2.5. FUNDAMENTO DEL EQUIPO, TECNOLOGIA DEL MODELO LH-750

En 1956, W.H. Coulter describe el principio de Coulter: Se pasa una suspensión de células sanguíneas a través de un pequeño orificio simultáneamente con una corriente eléctrica. Las células sanguíneas individuales que pasan a través del orificio introducen un cambio de impedancia en el orificio determinado por el tamaño de la célula. El sistema recuenta las células individuales y proporciona distribución del tamaño de las células. El número de células contadas por muestra es aproximadamente 100 veces más grande que el recuento microscópico habitual para reducir el error estadístico en un factor de aproximadamente 10 veces. (Consulte la figura 5)

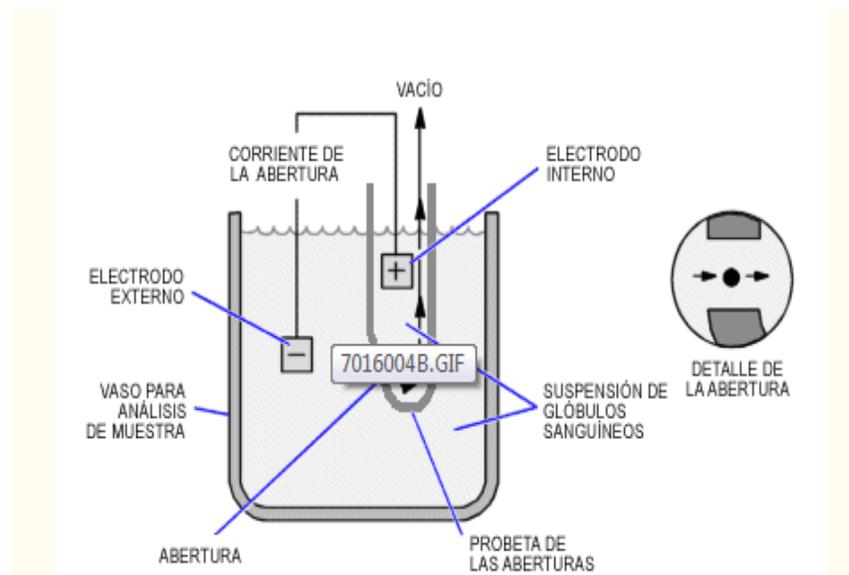


Figura 5. Método Coulter de recuento y distribución del tamaño de las células²⁵

Mientras que el número de impulsos indica el recuento de partículas, el tamaño del impulso eléctrico es proporcional al volumen de la célula.

Análisis de diferencial

El análisis de diferencial leucocitario y la clasificación se realizan en la celda de flujo, donde:

- La corriente de baja frecuencia mide el volumen,
- La corriente de alta frecuencia detecta el contenido celular interno a través de la medición de los cambios en la conductividad,
- La luz de dispersión láser fuera de las células LEU individuales caracteriza la superficie celular, la forma y la reflectancia.

Medición de diferencial

La tecnología VCS de Coulter estableció tecnología de fórmula leucocitaria utilizando tres mediciones: volumen de células individuales, conductividad de alta frecuencia y dispersión de luz láser.

Análisis de volumen

El análisis electrónico del volumen de los leucocitos, utilizando corriente de baja frecuencia, se ha utilizado desde 1967. Este método precisa los tamaños de todos los tipos celulares independientemente de su orientación en la trayectoria de la luz

Análisis de conductividad

Las paredes de las células actúan como conductores de la corriente de alta frecuencia, la corriente pasa y también a través del interior de cada célula detectando así las diferencias en las propiedades de aislamiento de los componentes de las

células. La corriente califica los elementos nucleares y granulares y la composición química del interior de la célula.

Análisis de dispersión de luz

La experiencia de Coulter en la citometría de flujo se remonta a varias décadas atrás, al uso pionero de Fulwyler de la dispersión de luz para el análisis celular. Cuando una célula es golpeada por la luz coherente de un rayo láser, la luz dispersada se extiende en todas las direcciones. Con el uso de un nuevo detector de propiedad, la mediana de las señales de ángulo de dispersión de luz se recoge para obtener información acerca de granularidad celular, lobularidad nuclear y estructura de superficie celular.²⁵

2.6. VOLUMEN CORPUSCULAR MEDIO ESFEROCÍTICO

El nuevo parámetro eritrocitario de Beckman-Coulter tiene una utilidad para la detección de la presencia de esferocitos, fue descrito cuando el VCM de los hematíes tiene un valor superior al VCM Esferocítico, que se obtiene en la reacción para analizar los reticulocitos y que en condiciones normales es superior al VCM pero que en estos casos es inferior.

Después de la tinción con nuevo azul de metileno, los glóbulos rojos son tratados con una solución ácida hipo-osmótica que produce eritrocitos esféricos y éstos eliminan la hemoglobina. Las células resultantes esféricas se clasifican en los glóbulos rojos maduros y en reticulocitos. El volumen promedio de todos los glóbulos rojos (tanto maduros y de los reticulocitos) es conocido como el VCME. Las células rojas

normales se someten a la expansión osmótica (VCME es entonces un poco más alto que su VCM), mientras que los esferocitos alcanzan un volumen crítico osmótico que conduce a la fragmentación celular en consonancia con la disminución del VCME. Chiron y sus colaboradores concluyeron que $VCME < VCM$ fue muy indicativo de EH, pero también podría revelar esferocitosis inmuno adquiridas. Sólo los analizadores hematológicos Gens, LH750 y LH780 Beckman-Coulter son capaces de proporcionar este parámetro.

III. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad los analizadores hematológicos han ido enriqueciéndose con la aparición de nuevos parámetros, además, proporcionan una serie de alarmas que alertan sobre la posibilidad de que diversas anomalías puedan estar presentes en la muestra analizada.

Si se cuenta con la tecnología es importante hacer uso de ella e implementarla en el laboratorio como un parámetro de uso diagnóstico. De esta manera se puede aumentar la productividad, abaratar costos, mejorar los tiempos de respuesta, disminuir los riesgos biológicos y dedicar más tiempo a los casos que verdaderamente necesiten mayor atención.

El presente trabajo evalúa el parámetro VCME como una prueba de escrutinio lo cual permite predecir la EH de una manera rápida y poner de manifiesto las ventajas de la nueva tecnología que existe hoy en día.

IV. HIPÓTESIS

El parámetro VCME obtenido a partir de la BH será un indicativo primario en el diagnóstico de Esferocitosis hereditaria en pacientes pediátricos.

V. OBJETIVO

5.1 General

- Evaluar la utilidad del volumen corpuscular medio esferocítico VCME como un indicador primario de esferocitosis hereditaria en el laboratorio.

5.2 Particulares

- Determinar mediante un equipo automatizado los valores VCME y VCM.
- Realizar frotis de sangre periférica de los pacientes con sospecha de esferocitosis.
- Correlacionar los parámetros VCME Y VCM en testigos y pacientes patológicos
- Analizar estadísticamente todas las poblaciones estudiadas así como calcular la sensibilidad y especificidad de la prueba.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación es un estudio transversal cuantitativo, se estudiaron muestras de sangre periférica de una población pediátrica de entre 0 y 18 años, 47 niños y 43 niñas. Se analizaron muestras de 30 niños sin alteraciones en la biometría hemática (designados como grupo control), 30 niños con EH y 30 niños con cualquier anemia diferente a EH, del Instituto Nacional de Pediatría ubicado en la Ciudad de México Distrito Federal.

Criterios de inclusión

CONTROLES

-Niños del INP sin alteraciones en la biometría hemática que provinieran de servicios como: Consulta externa, Gastronutrición, Oftalmología, Ortopedia.

PACIENTES CON EH

-Niños del INP que previamente hubieran sido diagnosticados con EH.

PACIENTES CON ANEMIAS

- Niños del INP que previamente hubieran sido diagnosticados con alguna anemia diferente a EH.

Criterios de exclusión

-Que estuvieran ingresados a servicios como Nefrología, Hematología, Oncología o que tuvieran alguna patología crítica.

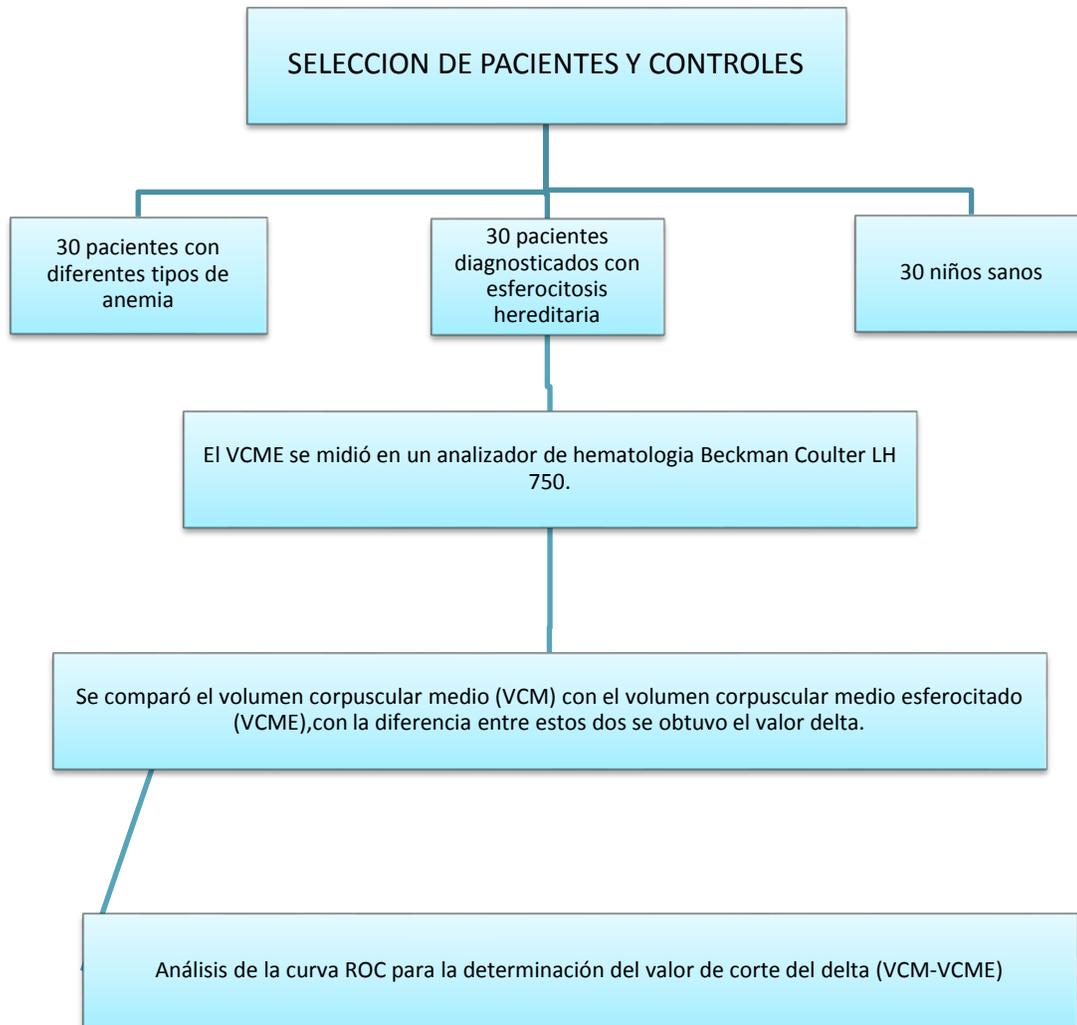
6.1 Descripción del estudio

Durante los meses de Octubre del 2010 a Mayo del 2011 se seleccionaron los pacientes y controles. A partir de esta población se extrajeron muestras de sangre periférica en tubos con EDTA. Las determinaciones de la biometría hemática, siendo de principal interés el Volumen corpuscular medio (VCM) y el Volumen corpuscular medio esferocítico (VCME) se realizaron con el Analizador Hematológico LH750 de Beckman Coulter.

6.2 Análisis Estadístico.

Estadística descriptiva se llevo a cabo con las variables correspondientes a medidas de tendencia central y de dispersión; media, mediana, desviación estándar. Se formó una base de datos en Excel de Office 2007 que permitiera identificar las características de cada paciente. Se calculó la sensibilidad y la especificidad. Y se hizo una evaluación para la determinación del valor de corte del delta usando una curva ROC creada con el programa estadístico SSP.

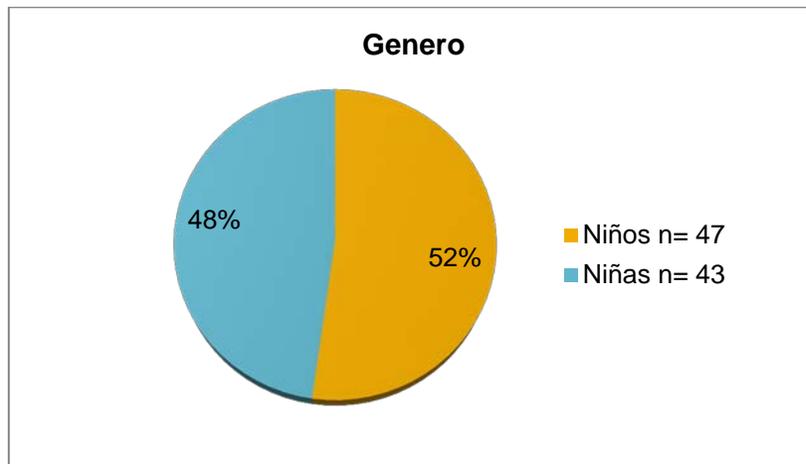
6.3 Estrategia de trabajo



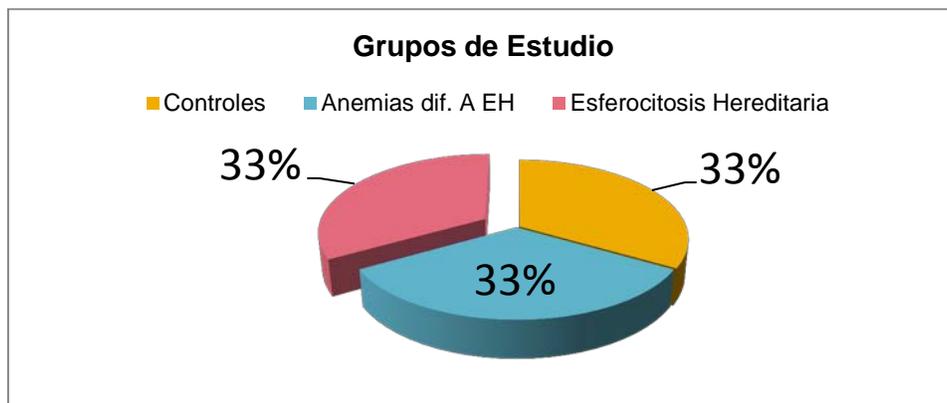
VII. RESULTADOS

Se evaluaron 90 niños, 47(52%) niños y 43 (48%) niñas. Con un rango de edad de 0 a 18 años. (Gráfica 1).

El universo de estudio se dividió en 3 grupos. El 33.3%(30) de los niños fueron el grupo control, 33.3% (30) el grupo con cualquier anemia diferente a EH y el 33.3% (30) tenían diagnóstico de EH. (Gráfica 2)



Gráfica 1. Muestra el porcentaje de niños y niñas que participaron en el estudio.



Gráfica 2. Muestra los 3 diferentes grupos en que se dividió el estudio.

RESULTADOS GENERALES

VALOR Δ (VCM-VCME). Al analizar los valores obtenidos, para las determinaciones de volumen corpuscular medio (VCM), y la cantidad de hemoglobina, no se observó diferencia entre los grupos de estudio; sin embargo al calcular la diferencia entre el VCM y VCME se obtuvo un valor diferente para el grupo de los pacientes con EH diagnosticados clínicamente, con respecto de los otros dos grupos, también se observó que el valor de VCME siempre fue menor al VCM en los casos de EH. (Ver tabla 2).

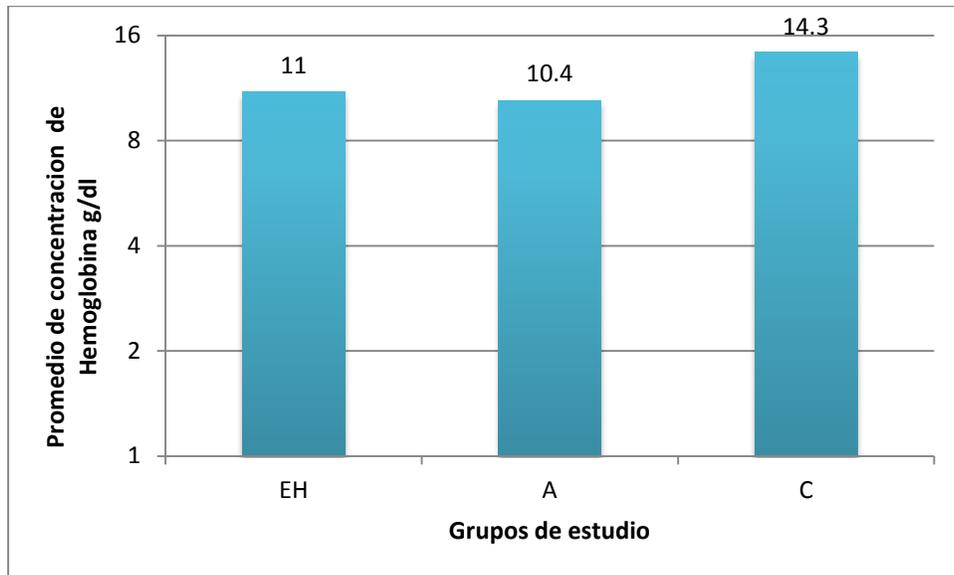
Tabla 2. Comparación de valores de los parámetros Hb, VCM, VCME Y Δ (VCM-VCME) en los diferentes grupos de estudio.

GRUPO DE PACIENTES	Promedio de Hb (g / dl)	Promedio VCM (fL)	Promedio VCME (fL)	Promedio Δ (VCM-VCME) (fL)
Esferocitosis Hereditaria (n=30)	11.0 (6.9 – 11.9)	88.5 (69.0 –110.0)	67.8 (50.1 –107.5)	20.6 (6.9 – 51.2)
Otras Anemias (n=30)	10.4 (4.03 – 11.8)	88.0 (70.3 -105.9)	84.3 (70.2 – 101)	5.7 (0.07 – 11.9)
Controles (n=30)	14.3 (13.5 – 15.0)	87.0 (81.1 -91.4)	79.9 (72 – 87.8)	6.7 (1.23 -9.14)

HEMOGLOBINA

El valor promedio de Hb que mostró el grupo con EH, fue de 11.0 g / dl (min 6.9- máx. 11.9 g / dl). El grupo con otras anemias tuvo un promedio de hemoglobina de 10.4 g / dl (min 4.03- máx. 11.8 g / dl). Mientras que el valor promedio de Hb que mostró el grupo control, fue de 14.3 g / dl (min 13.5- máx. 15.0 g / dl). (Ver Tabla 2 y Gráfica 3).

Evaluación de la Hemoglobina en los tres grupos de estudio.



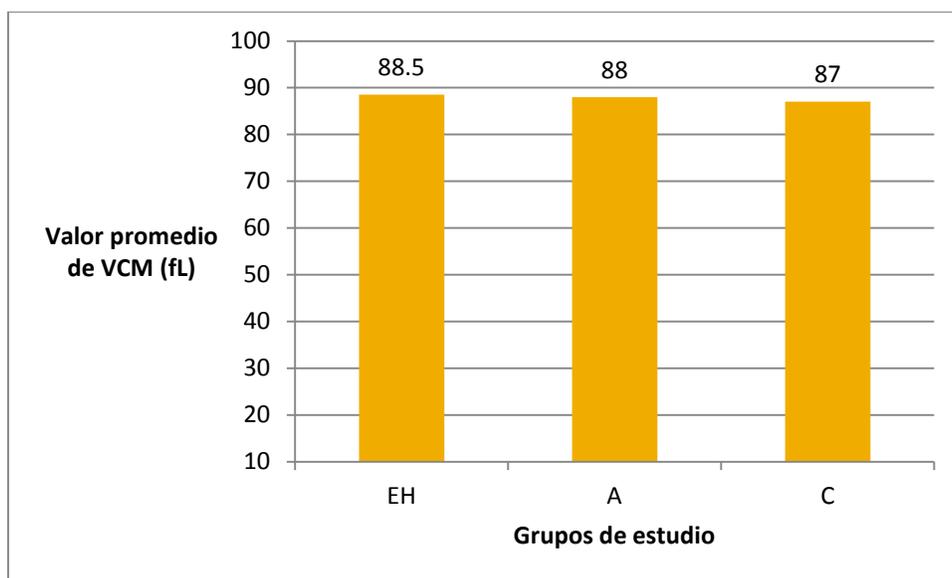
Gráfica 3. Valor promedio de Hemoglobina, para cada uno de los grupos. (EH) Esferocitosis Hereditaria, (A) anemias diferentes a EH y (C) grupo control.

VOLUMEN CORPUSCULAR MEDIO

Como ya se hizo mención anteriormente para el parámetro VCM los tres grupos de estudio tuvieron valores muy similares.

El grupo con EH presentó un promedio para el parámetro VCM de de 88.5 fL (min 69.0 –máx. 110.0 fL). El valor promedio que presentó el grupo correspondiente a otras anemias respecto a su VCM fue de 88.0 fL (min 70.3 –máx. 105.9 fL). Mientras que para el grupo control el valor promedio que presentó respecto a su VCM fue de 87.0 fL (min 81.1 –máx. 91.4 fL). (Ver Tabla 2, Gráfica 4).

Evaluación del VCM. Grafica para los 3 grupos utilizando su valor promedio.



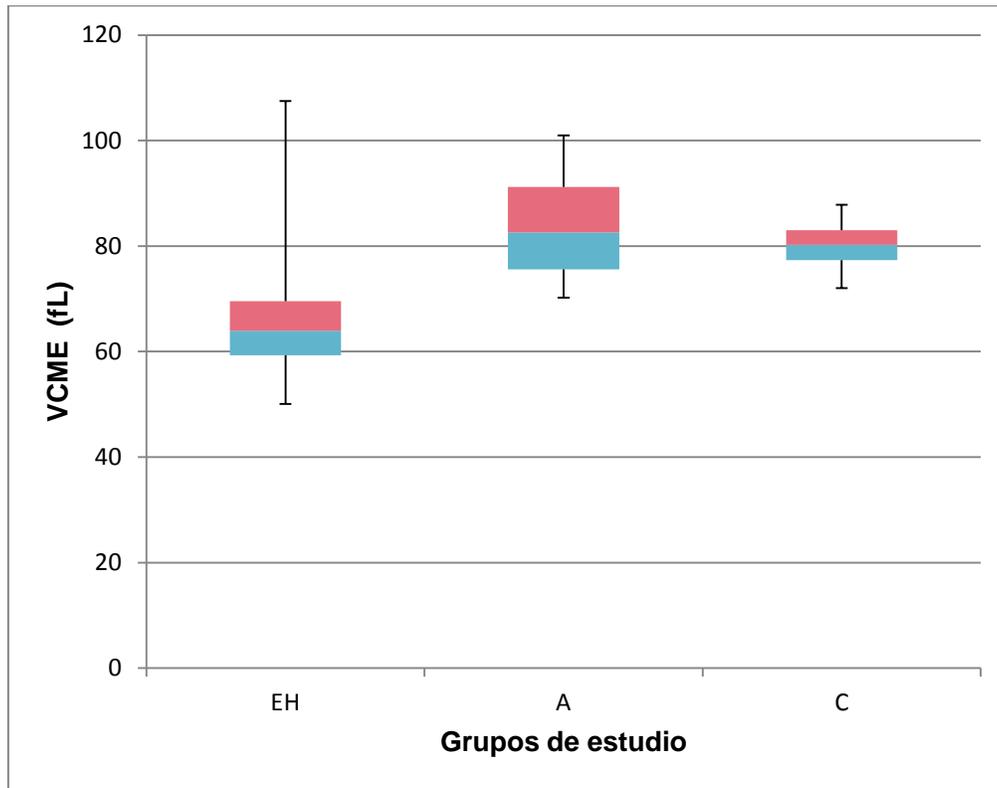
Gráfica 4. Valor promedio de VCM. (EH) Esferocitosis Hereditaria, (A) anemias diferentes a EH y (C) grupo control.

VOLUMEN CORPUSCULAR MEDIO ESFEROCÍTICO

Como se observó que el VCME presentaba un valor menor para la población con EH se utilizó un diagrama de cajas y bigotes para evidenciarlo. Para el grupo con EH el valor mínimo fue de 50.1fL, el Q1 (59.3 fL), M 63.95, Q3 (69.5 fL) y un valor máximo de 107.5fL. Para el grupo con otras anemias el valor mínimo fue de 70.2 fL, el Q1 (75.6 fL), M 82.6, Q3 (91.2 fL) y un valor máximo de 101fL. Y para el grupo control el valor mínimo fue de 72 fL, el Q1 (77.3 fL), M 80.2, Q3 (82.9 fL) y un valor máximo de 87.8fL. (Ver tabla 2, Gráfica 5).

Con esta gráfica podemos observar como el grupo con EH presenta valores de VCME muy por debajo de los que presentan los niños de los otros dos grupos. También se nota la presencia de un valor máximo atípico, lo cual sugiere las diversas gravedades clínicas de la enfermedad.

Evaluación del VCME para los 3 grupos de estudio.

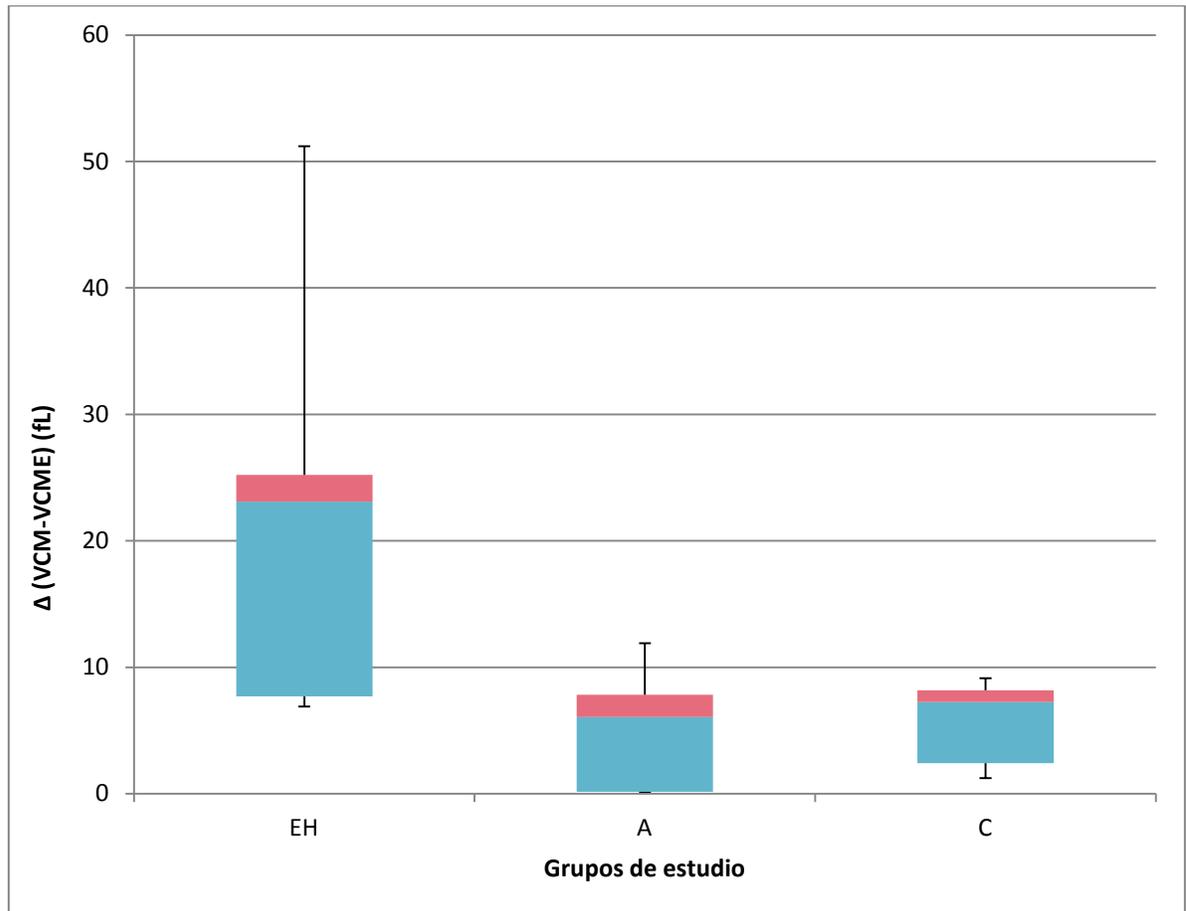


Gráfica 5. Tipo "caja y bigotes" que muestra la diferencia de medias del VCME en cada uno de los tres grupos incluidos en el estudio. (EH) Esferocitosis Hereditaria, (A) anemias diferentes a EH y (C) grupo control. Los bordes de la caja representan el primer y tercer cuartil del conjunto de datos, y la línea horizontal que atraviesa la caja representa la mediana. Los bigotes se extienden hasta el valor más extremo máximo y mínimo.

VALOR Δ (VCM-VCME)

La gráfica 6 muestra los valores Δ (VCM-VCME), de los grupos de EH, otras anemias y controles. Se observa una marcada diferencia del valor delta para el grupo de EH. También se observa un valor máximo muy atípico. Esta gráfica nos muestra la simetría, el sesgo y la dispersión de los datos de la distribución permitiendo contrastar al conjunto de datos de las tres poblaciones. Para el grupo con EH el valor mínimo fue de 6.9 fL, el Q1 (7.7 fL), M 23.1, Q3 (25.2 fL) y un valor máximo de 51.2fL. Para el grupo con otras anemias el valor mínimo fue de 0.07 fL, el Q1 (0.16 fL), M 6.06, Q3 (7.83 fL) y un valor máximo de 11.9 fL. Y para el grupo control el valor mínimo fue de 1.23 fL, el Q1 (2.4 fL), M 7.23, Q3 (8.18 fL) y un valor máximo de 9.14fL. (Ver tabla 2, Gráfica 6).

Comparación de los Valores Δ (VCM-VCME) para los 3 grupos de estudio.



Gráfica 6. Tipo "caja y bigotes". Comparación de los Valores Δ (VCM-VCME) para los 3 grupos de estudio. (EH) Esferocitosis Hereditaria, (A) anemias diferentes a EH y (C) grupo control. Los bordes de la caja representan el primer y tercer cuartil del conjunto de datos, y la línea horizontal que atraviesa la caja representa la mediana. Los bigotes se extienden hasta el valor más extremo máximo y mínimo.

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD

Conocida la condición de “no enfermo” y “enfermo” a partir del estándar de oro (prueba de fragilidad osmótica), se clasificó a los pacientes de los 3 grupos en VP, VN, FP y FN, y se procedió a calcular la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo para cada concentración de los valores Δ (VCM-VCME) como se indica a continuación (Ver tabla 3):

Tabla3. Relación entre el resultado de una prueba diagnóstica y la presencia o ausencia de una enfermedad.		
Resultado de la prueba	Verdadero diagnóstico	
	Enfermo	Sano
Positivo	Verdaderos Positivos (VP)	Falsos Positivos (FP)
Negativo	Falsos Negativos (FN)	Verdaderos Negativos (VN)

Cálculo de la Sensibilidad:

$$\text{Sensibilidad} = \frac{VP}{VP + FN}$$

Cálculo de la Especificidad:

$$\text{Especificidad} = \frac{VN}{VN + FP}$$

Valor predictivo positivo:

$$VPP = \frac{VP}{VP + FP}$$

Valor predictivo negativo:

$$VPN = \frac{VN}{FN + VN}$$

VALOR DE CORTE PARA Δ (VCM-VCME)

Se obtuvo un valor de corte para Δ (VCM-VCME), mediante un análisis de curva ROC (Gráf.7), de 9.6 fl con una especificidad del 90.0%, sensibilidad del 93%, valor predictivo positivo de 93.7% y un valor predictivo negativo del 96.7% (Tabla 4).

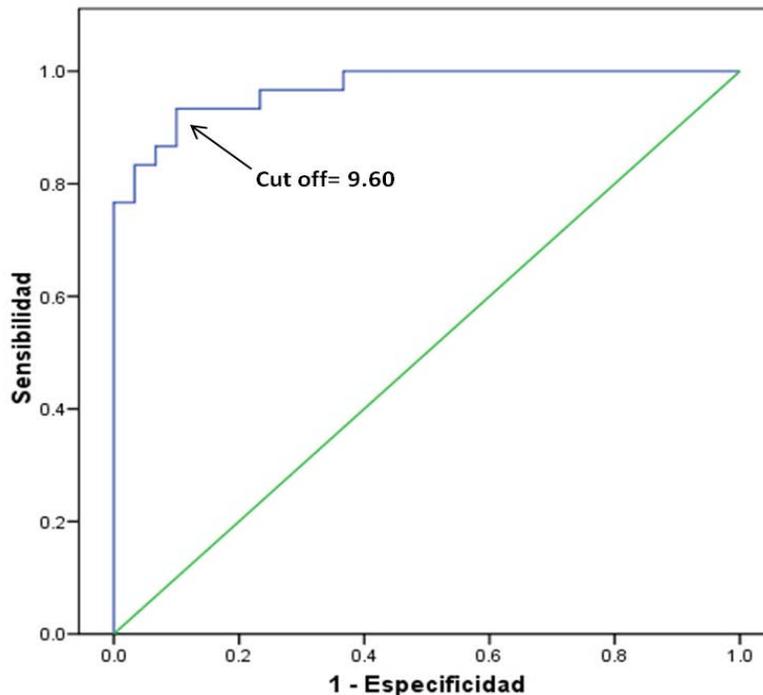
Tabla 4: Valores de los parámetros obtenidos del análisis por la tabla de riesgo relativo y curva ROC

PARAMETRO	VALOR
Especificidad	87.8%
Sensibilidad	96.2%
Valor predictivo positivo	86.7%
Valor predictivo negativo	96.7%
Δ (VCM-VCME)(ROC)	9.6 fL
Área bajo la curva (ROC)	0.969
Sensibilidad(ROC)	93%
Especificidad (ROC)	90%

VALOR DE CORTE PARA Δ (VCM-VCME)

En base a dichos cálculos se construyó una curva ROC, para identificar el punto de corte del delta (VCM-VCME) que determina la sensibilidad y especificidad más alta conjuntamente. Gráficamente, éste corresponde al punto de la curva ROC más cercano al ángulo superior-izquierdo del gráfico (punto 0,1), es decir, más cercano al punto del gráfico cuya sensibilidad= 100% y especificidad = 100%

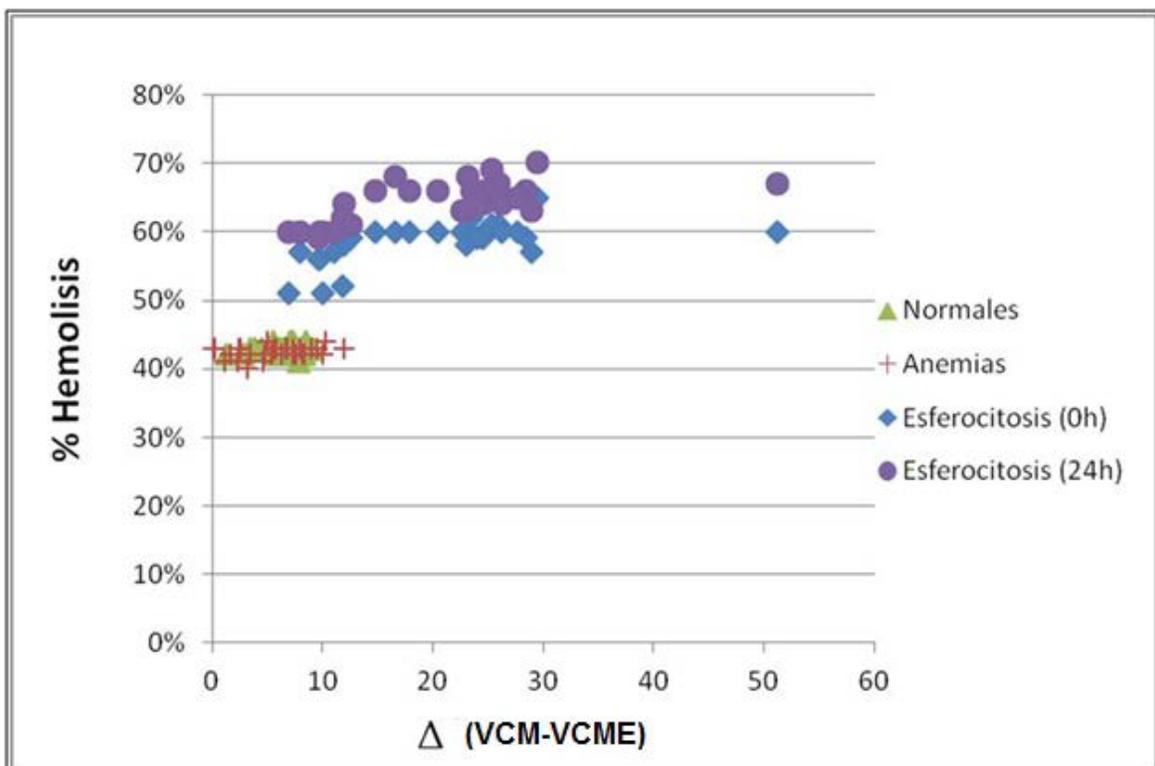
Evaluación de la sensibilidad y especificidad del delta (VCM-VCME) en la predicción de esferocitosis hereditaria



Grafica 7. Curva ROC de los valores Δ (VCM-VCME).

CORRELACIÓN DEL VALOR Δ (VCM-VCME) CON LA PRUEBA DE FRAGILIDAD GLOBULAR

Se observó congruencia en la correlación entre el valor Δ (VCM-VCME) y la fragilidad globular, al presentarse un valor Δ (VCM-VCME) $> 9.6\text{fl}$ la fragilidad globular resulto positiva; el grupo con EH se presenta de forma aislada y bien definida del resto de los grupos de estudio. (Gráfica 8).



Gráfica 8. % de hemolisis de las poblaciones en estudio contra el valor delta (VCM-VCME)

RELACION ENTRE LA PRESENCIA DE ESFEROCITOS EN EL FSP Y EL VALOR Δ (VCM-VCME)

Se encontró una relación directamente proporcional entre el valor Δ (VCM-VCME) y la presencia morfológica de esferocitos en el frotis de sangre periférica, cuando se observa una mayor cantidad de esferocitos se obtiene un valor Δ (VCM-VCME) mas grande. (Gráfico 9).

Relación entre la valoración morfológica de la presencia de esferocitos en las muestras de los pacientes diagnosticados clínicamente y el (VCM-VCME).

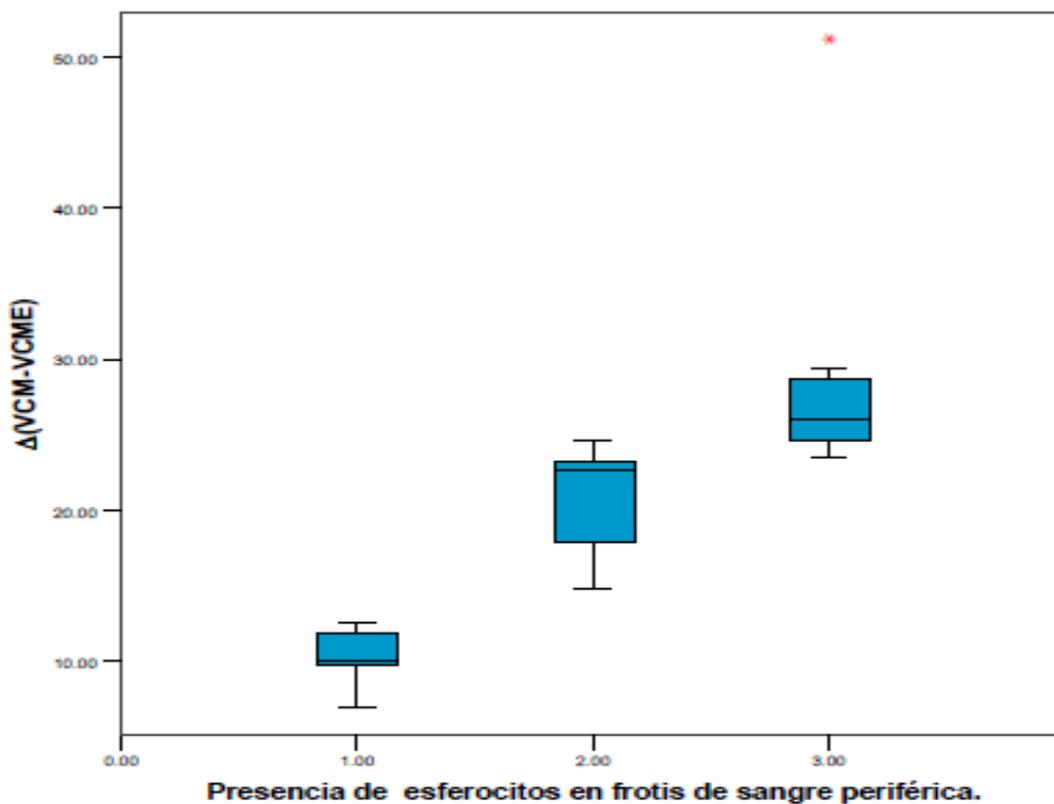


Gráfico 9: Relación entre la presencia de esferocitos en FSP y el valor Δ (VCM-VCME)

VIII. DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio indican que la determinación del parámetro VCME con un punto de corte \geq a 9.6 presenta una sensibilidad y una especificidad elevada (96,2% y 87,8% respectivamente); por ese motivo, se recomienda la realización y la evaluación de esta prueba en la práctica rutinaria a la par de la biometría hemática, ya que habitualmente no se realiza en los laboratorios de diagnóstico clínico y junto con la observación del frotis son de gran utilidad en la sospecha de la EH.

El valor predictivo positivo (VPP) obtenido (86.7%) representa la probabilidad de que alguien con un resultado positivo en la prueba en estudio (un valor delta \geq 9.6), tenga la característica de interés, es decir EH.

En cuanto al valor predictivo negativo (VPN) responde a la pregunta ¿Cuál es la probabilidad de que las personas con resultados negativos (valor delta $<$ 9.6) no tengan la enfermedad? Resultando en un 96.7% de la población estudiada.

Bajo el mismo comportamiento quedan los resultados obtenidos por M. Chiron, T. Cynober, F. Mielot, G. Tchernia and L. Croisille del Laboratorio de Hematología, Facultad de Medicina Hospital Bicêtre, París. Donde también concluyen que la diferencia entre el valor del VCM y el VCME es un hallazgo fortuito y es probable que sea una mejora fiable para la detección de rutina de EH.⁹

Chiron M et al demostraron que cuando la diferencia es superior a 10 fL, el VPP es del 91.8% y el VPN del 94.7%. Resultados muy semejantes a los encontrados en el

presente estudio. The Gen's: a fortuitous finding of a routine screening test for hereditary spherocytosis.⁹

Así mismo comparando nuestros resultados respecto al grupo de pacientes con Esferocitosis Hereditaria (n=30) el valor delta (VCM-VCME) con un rango de 9.6 fl a 29.47 fl y una media de 20 fl, con los que reporta J. Broseus. B. Visomblan, J Guy, M. Maynade, F. Girodon del laboratorio de la Universidad de Dijon Francia, (n=33) donde encontraron el valor delta (VCM-VCME), con un rango de 9.7 a 28.2 fl con una media de 19.55 fl fueron muy concordantes.⁷

Se encontró una relación directamente proporcional entre el valor Δ (VCM-VCME) y la presencia morfológica de esferocitos en el frotis de sangre periférica, cuando se observa una mayor cantidad de esferocitos se obtiene un valor Δ (VCM-VCME) mas grande.

IX. CONCLUSIONES

El VCME es un parámetro fácil de obtener, rápido y de bajo costo que nos ha proporcionado un valor muy predictivo de esferocitosis hereditaria.

Sugerimos que el parámetro VCME es confiable como prueba de escrutinio de detección para identificar EH. Es de gran utilidad ya que aun para los ojos del más experimentado hematólogo, pueden pasar desapercibidas las formas leves de la enfermedad.

Es de suma importancia resaltar que el valor del VCME no implica costo extra, tiempo ni la adición de mas reactivos, ya que el equipo lo da a la par de la biometría hemática y cuenta de reticulocitos, lo que es un gran beneficio para el paciente y el laboratorio.

El VCME no puede sustituir a la prueba de fragilidad osmótica en la confirmación del diagnóstico y la identificación de la anemia EH, pero las pruebas presuntivas pueden apoyar una mejor toma de decisiones y a un diagnostico más oportuno sobre todo en casos leves de la enfermedad.

X. Bibliografía

1. Bajracharya BL, Giri A, Baral MR. **Hereditary spherocytosis**. Kathmandu University Medical Journal. Vol. 2, No. 2, Issue 6, 145-148. 2003. Nepal.
2. Barcellini Wilma, Bianchi Paola, Fermo, Elisa G. Imperiali Francesca, Marcello, Anna P. Vercellati Cristina, Zaninon Anna, Zanella Alberto. **Hereditary red cell membrane defects: diagnostic and clinical aspects**. Blood Transfus; 9:274-7. 2011. Italy.
3. Benítez-Aranda Herminia, Duque-Rodríguez Jorge, Renán A. Góngora-Biachi. **Epidemiología de las enfermedades hematológicas en el ámbito nacional**. Gac Méd Méx Vol.138 Suplemento No. 1. 2002. México.
4. Benítez-Aranda Herminia, Ibarra-Cortés Bertha. **Anemias Hemolíticas Hereditarias**. Gac Méd Méx Vol. 139, Suplemento No. 2, 2003. México.
5. Bianchi Paola, Fermo Elisa, Vercellati Cristina. Marcello Anna P, Porretti Laura, Cortelezzi Agostino, Barcellini Wilma and Zanella Alberto. **Diagnostic power of laboratory tests for hereditary spherocytosis: a comparison study in 150 patients grouped according to molecular and clinical characteristics**. Haematologica | 97(4). 2012. Italy.
6. Bolton-Maggs B. **Hereditary spherocytosis; new guidelines**. Arch Dis Child; 89:809–812.2004.UK.
7. Broseus, J. Visomblain, B. Guy, J. Maynadie, M. Girodon, F. **Evaluation of mean spheroid corpuscular volume for predicting hereditary spherocytosis**. International Journal of Laboratory Hematology. Vol 32; number 5, pages 519-523. 2010. France.
8. Camacho-Torres, Sánchez-López, Mesa-Cornejo, Bertha Ibarra, Perea-Díaz. **Análisis de los polimorfismos G199A, Ncol del gen ANK1 y Memphis I del gen SLC4A1 en Individuos sanos y pacientes mexicanos con esferocitosis hereditaria**. Gac Méd Méx Vol. 142. No. 5, 2006. México.
9. Chiron M., Cynober T, Mielot F., Tchernia G. and Croisille L. **The GEN.S: a fortuitous finding of a routine screening test for hereditary spherocytosis**. Hematol Cell Ther. Jun; 41(3):113-6. 1999. France.

10. Dong Il Won, Soo Suh Jang. **Flow Cytometric Detection of Erythrocyte Osmotic Fragility**. Part B; 76B: 135–141. 2009. Republic of Korea.
11. Eandi Eberle Silvia, Sciuccati Gabriela, Bonduel Mariana, Diaz Lilian, Staciuk Raquel, Feliu Torres Aurora. **Indices eritrocitarios en la Esferocitosis Hereditaria**. MEDICINA; 67: 698-700. 2007. Argentina.
12. Fernandez Tracey, Bessert Domack Lynn, Montes Dinah, Pineiro Richard, Landrum Eileen, Vital Esther. **Performance Evaluation of the Coulter LH 750 Hematology Analyzer**. Laboratory Hematology 7:217–228. 2001. USA.
13. Gallagher Patrick , Steiner Laurie , Liem Robert , Owen Ashley, Cline Amanda , Seide Nancy , Garrett Lisa , Bodine David. **Mutation of a barrier insulator in the human ankyrin-1 gene is associated with hereditary spherocytosis**. The Journal of Clinical Investigation. Volume 120 Number 12 December. 2010. USA.
14. Gonzalez Gonzalez Ay, Gonzalez Escamilla HA, Garza Ramos D. **Ictericias**. Medicina Univeristaria Volumen 2, Num 8, julio-septiembre, 2000. México.
15. GRANJO ELISA et al. **Esferocitose hereditária - prevalência dos défices proteicos da membrana do eritrocito**. Acta Médica Portuguesa; 16: 65-69. 2003. Portugal.
16. Greer John P. , Foerster John, Rodgers George M., Paraskevas Frixos , Glade Bertil r, Daniel A. Arber, Robert T. Means. **Wintrobe's Clinical Hematology**.Vol 1 Pags. 911-919. 2009. USA.
17. Herrera García Mayelín, Estrada del Cueto Marianela. **Esferocitosis Hereditaria: Aspectos Clínicos, Bioquímicos Y Moleculares**. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter; 18(1):7-24. 2002. Cuba.
18. Mariani Maria, Barcellini Wilma, et al. **Clinical and hematologic features of 300 patients affected by hereditary spherocytosis grouped according to the type of the membrane protein defect**. Haematologica; 93(9). 2008. Italy.
19. Pinzón Alejandro, Vargas Flavio' Lozano Abner. **Ictericia Recurrente En Hombre De 22 Años. Presentación De Un Caso De Esferocitosis Hereditaria**. Revista Med. Enero,año/vol. 15, numero 001. 2007. Colombia.

20. Rodak Bernadette F. **Hematología: Fundamentos y aplicaciones clínicas**. Parte IV. Pags. 268-274. Editorial Médica Panamericana. 2005. México.
21. Salomao Marcela, Chen Ke, Villalobos Jonathan, Mohandas Narla, An Xiuli, Chasis Joel Anne. **Hereditary spherocytosis and hereditary elliptocytosis: aberrant protein sorting during erythroblast enucleation**. Blood, volume 116, number 2. 2010. USA.
22. Sánchez Romero, Leonardo Guerrero, Ricart Taveras, Alcántara Sánchez, Pichardo, Romero Reyes. **Esferocitosis hereditaria. Comunicación de un caso**. Rev Med Dom Vol.66, No. 1 Enero/abril, 2005. República Dominicana.
23. Silverio Perrotta, Fulvio Della Ragione, Francesca Rossi, Rosa Anna Avvisati, Daniela Di Pinto, Giovanna De Mieri, Saverio Scianguetta. 2009. **β -spectrin Bari: a truncated β -chain responsible for dominant hereditary Spherocytosis**. Haematologica; 94(12). 2009. Italy.
24. Warang Prashant, Gupta Maya, Kedar Prabhakar, Ghosh Kanjaksha, Roshan Colah. **Flow Cytometric Osmotic Fragility An Effective Screening Approach for Red Cell Membranopathies**. Cytometry Part B (Clinical Cytometry) 80B:186–190. 2011. India.
25. https://www.beckmancoulter.com/ucm/idc/groups/public/documents/webasset/glb_bc_i_150475.pdf
26. https://www.beckmancoulter.com/ucm/idc/groups/public/documents/webasset/glb_bc_i_150476.pdf
27. http://epidemiologiaanimalhumana.com/yahoo_site_admin/assets/docs/M10417071.277232805.pdf
28. <http://www.labclin.es/2009/pdf/ponenicass10/1.pdf>