



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**TESIS**

**PARA OBTENER EL TITULO EN HEMATOLOGIA PEDIATRICA**

**“EFECTO DE LA MEJORÍA DEL DOLOR SECUNDARIO A CRISIS VASO-  
OCLUSIVAS Y NIVELES DE HEMOGLOBINA FETAL EN PACIENTES CON  
ANEMIA DE CÉLULAS FALCIFORMES TRATADOS CON HIDROXIUREA,  
ATENDIDOS EN HPCMNO DEL IMSS”**

**PRESENTA:**

**Dra. Alicia Gutiérrez Méndez**

**Guadalajara Jalisco 05 de febrero 2015**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

## **AGRADECIMIENTOS**

En primer lugar a Dios por darme la vida.

A mis padres, Alicia Méndez y Arturo Gutiérrez, por enseñarme que con esfuerzo y constancia se puede lograr cualquier cosa, por su amor y por acompañarme siempre a pesar de las circunstancias.

A la Dra. Janet Margarita Soto Padilla. Hematóloga Pediatra, Director de tesis, por ser un gran ejemplo como maestra y como profesional, por hacer realidad este trabajo, por su valioso tiempo y esfuerzo.

Al Dr. Francisco Javier Perea Diaz, Investigador, asesor metodológico de tesis, por ser un gran ejemplo en investigación científica y su dedicación y pasión por este trabajo.

A mi hermano: Arturo Gutiérrez Méndez por confiar siempre en mí, por sus consejos y su compañía, que me motivó a superar los momentos más difíciles.

A mis amigos, los cuales han permanecido conmigo en las buenas y en las malas, apoyándome y orientándome para siempre tomar el camino correcto, ayudándome a solucionar los contratiempos.

A mis Maestros, fuente de sabiduría y experiencia, no sólo por sus conocimientos compartidos desinteresadamente, sino también por su paciencia al enseñar, pero sobre todo por brindarme su amistad.

A las personas que se encuentran en el laboratorio, por su valiosa colaboración para la elaboración de esta tesis.

A mis compañeros, porque aprendimos y crecimos juntos, compartimos momentos inolvidables, gracias por su amistad, la cual definitivamente para mí, es invaluable. Los llevaré en mi corazón y mi memoria por siempre.

A cada uno de los pacientes con los que me he cruzado a lo largo del camino porque han contribuido a mi aprendizaje, y al final, son la razón por la cual elegí esta profesión.

## INDICE

Resumen.....	4
Marco Teórico.....	5-27
Justificación.....	28
Planteamiento del problema.....	29
Pregunta de investigación.....	29
Objetivos.....	30
Material y Métodos.....	32-38
Hipótesis.....	30
Diseño de estudio.....	30
Población de estudio.....	31
Criterios de inclusión, no inclusión y exclusión.....	31
Tamaño de la muestra y análisis estadístico.....	31
Variables.....	32
Descripción de metodología.....	32
Desarrollo del estudio.....	33
Aspectos éticos.....	34
Recursos e infraestructura.....	34
Experiencia del grupo.....	34
Consentimiento informado.....	35-36
Tabla de operacionalización de variables.....	37
Cronograma de actividades.....	38
Resultados .....	39-44
Discusión.....	45-47
Conclusiones.....	48
Anexos.....	49-59
Bibliografía.....	60-62

## RESUMEN

Efecto de la mejoría del dolor secundario a crisis vaso-oclusivas y niveles de hemoglobina fetal en pacientes con anemia de células falciformes tratados con hidroxiurea, atendidos en HPCMNO IMSS.

**Objetivo General:** Evaluar el efecto de la terapia con hidroxiurea sobre los niveles de Hemoglobina fetal y si existe mejoría en los eventos de dolor secundarias a crisis vaso-oclusivas en pacientes con anemia de células falciformes (ACF) tratados con hidroxiurea en UMAE pediatría CMNO.

**Material y métodos:** Se incluyeron 11 pacientes pediátricos de 6 a 16 años de edad, ambos sexos, con estudio bioquímico de porcentaje de hemoglobina fetal (HbF) y estudio genético para ACF, en tratamiento con hidroxiurea de al menos dos meses en UMAE Pediatría CMNO, se evaluó la mejoría de las crisis de dolor asociadas a vaso-oclusión, utilizando escalas unidimensionales y multidimensionales, aplicadas previa y posterior al tratamiento con hidroxiurea, comparando los resultados de ambas. Se cuantificaron niveles de HbF, mediante el método de desnaturalización alcalina, previo y posterior al tratamiento con hidroxiurea para evaluar eficacia del tratamiento con la elevación de la HbF. Se efectuó el análisis con pruebas estadísticas comparativas clásicas (tablas de razón de prevalencia mediante  $Ji^2$ , comparación de grupos independientes mediante sus proporciones). Se empleó el programa SPSS v18 y se consideró una  $\alpha < 0.05$  como nivel de significancia estadística.

**Resultados:** De los 11 pacientes enrolados, seis (54,54%) fueron varones, previo al tratamiento con hidroxiurea, 4 pacientes, presentaban dolor muy severo (MS) y los 6 restantes dolor severo (DS), en la escala unidimensional, en la escala multidimensional, 5 pacientes con dolor MS, 5 pacientes DS y 1 paciente dolor moderado (DM). Posterior al tratamiento con hidroxiurea, el dolor en ambas escalas, se evaluó como leve en seis de los pacientes y DM en los 5 restantes. Los valores promedio del porcentaje de HbF con los métodos Betke y Singer, incrementaron  $5.9\% \pm 3.7$  y  $4.7\% \pm 2.9$ . El incremento de HbF estuvo presente en el 90.90% de los pacientes. Se observó incremento significativo en la Hemoglobina (Hb), posterior al tratamiento con hidroxiurea, hubo elevación de la TGP sin cambios significativos que sugirieran toxicidad, TGO, bilirrubinas y electrolitos séricos dentro de rangos normales.

**Conclusiones:** La etiología de la ACF, es hereditaria, por lo que no podemos evitarla, con el tratamiento con hidroxiurea, además de la disminución del dolor, podemos mejorar la calidad de vida de los pacientes, disminuyendo a su vez, complicaciones propias de la enfermedad con incremento de Hb fetal. El incremento de HbF puede estar asociada a factores genéticos, lo que puede afectar su incremento a pesar de tener un tratamiento oportuno y adecuado.

## Marco Teórico

### Historia:

En 1904, James B. Herrick, cardiólogo de Chicago y profesor de medicina fue el primero en observar las células falciformes junto con su interno Ernest Edward Iron, encontraron "una célula alargada y peculiar en forma de hoz" en un joven estudiante llamado Noel, africano de 20 años de edad, con síndrome anémico, el cual murió 12 años después del diagnóstico. <sup>1</sup>

El segundo caso Ellen Anthony de 25 años de edad, estuvo en observación en el hospital de Virginia en 1907 encontrándose extrañas formas sanguíneas por los patólogos en el hospital de la Universidad Johns Hopkins, se consideró un caso inusual de anemia perniciosa, el cual se aclaró después, gracias a la publicación del Dr. James Herrick en 1910, reportándose el caso tres meses después en 1911. <sup>1</sup>

Se detectó el tercer caso en la Escuela de Medicina de la Universidad Washington en 1915, una mujer de 21 años, tres de sus hermanos habían muerto de anemia severa mostrando una deformidad falciforme de los glóbulos rojos. <sup>1</sup>

El cuarto caso atendido en las salas del Hospital Johns Hopkins en 1922, fue un hombre negro de 21 años de edad, siendo Vernon Mason el primero en utilizar el término "anemia de células falciformes, encontrando que los casos eran en pacientes de raza negra, comenzó la creencia popular de que la enfermedad se limita a las personas de origen africano. <sup>1</sup>

El fenómeno de células falciformes se hereda como un rasgo mendeliano de forma autosómica recesiva, fueron clasificados por el Dr. Lemuel Diggs en 1933 en casos asintomáticos "falciformes latentes", y aquellos con características de la enfermedad, "Falciformadores activos". <sup>1</sup>

En 1949, Linus Pauling y sus colegas fueron los primeros en demostrar que la enfermedad de células falciformes se produce como consecuencia de una anomalía en la molécula de hemoglobina. Esta fue la primera vez que se encontraba una enfermedad genética ligada a una mutación en una proteína específica, un hito en la historia de la biología molecular. <sup>1</sup>

La enfermedad de células falciformes (ECF) es uno de los trastornos genéticos más comunes que afecta a 1/400 personas de ascendencia africana, así como árabes, indios e hispanos. <sup>2</sup>

## **Epidemiología**

La anemia de células falciformes es un desorden hereditario caracterizado por células sanguíneas anormales, rígidas, constituye un 3.4% de mortalidad en niños menores de 5 años a nivel mundial, fue originalmente encontrada en trópicos y subtrópicos, la prevalencia en Nigeria es de aproximadamente 3%, afectando cerca de 20 de cada mil recién nacidos, 85% de las anemias de células falciformes ocurre en África y al menos 5.2% de la población mundial sufre de este trastorno. <sup>3</sup>

De acuerdo a la OMS, es estimado que el 7% de la población mundial tiene alguna hemoglobinopatía, de las cuales el 50% de ellas, tienen anemia de células falciforme, cerca de 300000 niños con anemia drepanocítica nacen anualmente, la prevalencia de esta enfermedad es de 0.1 /1000 en países no endémicos para malaria, y de 20/1000 en países del continente africano. <sup>4</sup>

La mayoría de los trastornos, ocurren en población de raza negra, y es todavía más común en África central, la alta prevalencia de HbS en África y Asia es porque la malaria (una enfermedad transmitida por un parásito, *Plasmodium falciparum*), ejerce un efecto de selección natural para los heterocigotos. <sup>4</sup>

Sin embargo, el grado de protección está relacionado con las condiciones intracelulares de los portadores de HbS. <sup>4</sup>

En España, las hemoglobinopatías tienen una prevalencia que varía de 0.14 a 0.94% y la prevalencia estimada para anemia de células falciformes varía de entre 0.001 a 0.03

En Francia, ha incrementado el número de recién nacidos designados como de alto riesgo para anemia de células falciformes, basados en origen étnico. La anemia de células falciforme es ahora la enfermedad hereditaria con mayor prevalencia en Europa, con la implementación del tamiz neonatal para anemia de células falciformes, Inglaterra y muchos sitios en Bélgica. <sup>4</sup>

En Estados Unidos de América, fue uno de los países que reconoció la importancia del problema de anemia de células falciformes, para la salud pública, se realizó un seguimiento donde a los niños con anemia de células falciformes, se administró, de manera temprana, penicilina, reduciendo la morbimortalidad en los niños diagnosticados. El 95% de los niños con anemia de células falciformes en su forma más severa, sobrevive la primera década de la vida, pero posteriormente vivirán hasta adultos, En México, la prevalencia para anemia de células falciformes AS es del 11.2%. (Tabla 1). <sup>4</sup>

**Tabla 1. Prevalencia de la anemia de células falciformes en la población mundial**

<b>Región</b>	<b>Alteraciones de la Enfermedad de células falciformes<sup>a</sup> (afectación por 1000)</b>	<b>Prevalencia de portadores de (HbS)<sup>b</sup> (%)</b>
<b>África</b>	<b>10.68</b>	<b>5 a 30</b>
Benin		25.5
República democrática del Congo		16.9
Nigeria		19 a 27
República de Tanzania		10 a 38
<b>América</b>	<b>0.49</b>	
Estados unidos		8 en la población de africanos americanos.
México		11.2
República de Panamá		8 a 16
Brasil		6.2
Colombia		11.9
<b>Europa</b>	<b>0.07</b>	
España		0.01 a 0.3
Italia		2 a 13
Grecia		0.01 a 0.3
Inglaterra		0.05
Francia		0.048
Países escandinavos		0.049
Este de Europa (Albania, Croacia, Bulgaria, Bosnia)		2 a 5
Rusia		Raro
<b>Mediterráneo oriental</b>	<b>0.84</b>	
Arabia Saudita		17 a 21
Egipto		9 a 22
<b>Sureste de Asia</b>	<b>0.69</b>	
Asia Central y la India		10 a 20
<b>Pacífico occidental</b>	<b>0.00</b>	
Australia		1.8

<sup>A</sup> Desórdenes de Anemia de células falciformes incluyen: SS, SC S/β talasemia;

<sup>b</sup> los datos son basados en la referencia. (4).



Más de 400 variantes de Hb anormal han sido descritas, la alteración en la estructura de la hemoglobina, llamado desordenes de Hb o hemoglobinopatías. En la anemia de células falciformes, todos los genotipos contienen al menos un gen falciforme. La HbS constituye al menos la mitad de la hemoglobina presente, hay cinco genotipos:

1. Enfermedad de HbS o anemia de células falciformes, homocigoto para la mutación de beta globina ( $\beta^6$  GAG-GTA), usualmente el fenotipo clínico es de moderado a severo.
2. HbS/ $\beta^0$  talasemia: doble heterocigoto, presenta dos alelos anormales, HbS y  $\beta$  talasemia, es casi indistinguible de la anemia de células falciformes fenotípicamente puede ser severo.
3. HbS/ $\beta^+$  talasemia: doble heterocigoto para HbS y  $\beta^+$  talasemia, el fenotipo clínico tiene un curso más benigno, se detecta de forma predominante en área mediterránea y mar Caribe.
4. Enfermedad de HbSC: doble heterocigoto, para HbS y HbC ( $\beta^6$  GAG-AAG) con fenotipo clínico de moderado a severo.
5. HbS/HPFH persistencia hereditaria de Hb Fetal, e fenotipo clínico es de leve a moderado, sin embargo casi no presenta síntomas.
6. Otras formas de asociación de HbS con diferentes hemoglobinopatías (Hb D-Los Ángeles, G- Philadelphia, Hb O-Arab) pueden tener distinta variabilidad clínica.

4

### **Bases bioquímicas:**

La anemia de células falciformes, fue la primera enfermedad genética en la que se identificó una anomalía molecular, es decir, una mutación puntual, que se debe a la sustitución de timina por adenina en el codón GAG en la 6 posición de la Beta globina, en dicho codón, se sustituye por GUG en el ARN mensajero, que al traducirse cambia una valina por un ácido glutámico. <sup>2</sup>

El gen beta globina se localiza en el cromosoma 11, solo las variantes de hemoglobina con la sustitución previamente mencionada, sufren falciformación. <sup>5</sup>

Las variantes de hemoglobina beta se heredan en forma autosómica dominante desde el punto de vista bioquímico, sin embargo es autosómico recesivo desde el punto de vista clínico ya que no todos los pacientes presentan manifestaciones.

La HbS sometida a bajas presiones de oxígeno, forma un polímero dentro de los eritrocitos, los cuales se distorsionan en formas alargadas o espiculadas dando como resultado la forma de Hoz, la deformabilidad de las células falciformes se reduce mucho,

de tal manera que no son capaces de atravesar los pequeños vasos de la microcirculación, bloqueando así la circulación local y causando isquemia, la HbS puede causar anemia hemolítica crónica con disminución del hematócrito tan bajo como el 20%, sin embargo, el hematocrito puede compensar el aumento de viscosidad por la disminución en la deformabilidad, la Hb libre libera óxido nítrico, uno de los más potentes vasodilatadores de origen natural conduciendo a disfunción endotelial, la cual afecta el flujo sanguíneo, los individuos homocigotos con anemia de células falciformes, a menudo sufren complicaciones vaso-oclusivas graves como períodos repetidos de crisis dolorosas, síndrome torácico agudo, accidente cerebrovascular y priapismo.<sup>2</sup>

Una de las consecuencias directas de la polimerización es la formación de agregados celulares dentro de los vasos, la Hb se desnaturaliza y comienza la liberación de hierro, esto promueve la existencia de un microambiente con la formación de radicales superóxido y la formación de hemicromos.<sup>4</sup>

Sólo pocos factores han sido identificados como factores desencadenantes de la transición a la crisis generalizada, incluyendo episodios transitorios de hipoxia (apnea del sueño) y una disminución de la perfusión local, secundaria a incremento de la viscosidad sanguínea local.<sup>2</sup>

Las estrategias de tratamiento actuales para anemia de células falciformes están basadas en el tratamiento sintomático del paciente, un número limitado de fármacos que reducen la polimerización de HbS intracelular después de la desoxigenación, y la terapia de transfusión de glóbulos rojos con HbA normal, la cual se utiliza para:

- 1) Disminuir el número de eritrocitos falciformes, mejorando la viscosidad sanguínea y el flujo sanguíneo.
- 2) Disminuir la hemólisis.
- 3) Suprimir la producción de glóbulos rojos que contienen HbS en la médula ósea.

Sin embargo, la terapia de transfusión no detiene la crisis de dolor agudo, pero es eficaz para disminuir complicaciones como apoplejía mayor y síndrome torácico agudo.<sup>2</sup>

La hipoxia es uno de los factores desencadenantes más comunes de la crisis drepanocítica, se ha demostrado que la baja saturación de oxígeno nocturna se asocia con una mayor incidencia de crisis dolorosas en la infancia.<sup>2</sup>

La micrografía electrónica de la Hb Falciforme muestra a presencia de micro túbulos múltiples que consisten en moléculas de hemoglobina amontonadas, las moléculas no

se apoyan directamente una sobre otra, por lo que se forma una estructura helicoidal. Catorce hebras de fibra se organizan en pares, dando lugar a una fibra que tiene 21 nm de diámetro. <sup>5</sup>

Cuando una célula falciforme y desfalciforme repetidamente, la membrana se afecta y la célula se vuelve irreversiblemente falciforme, se mantiene así incluso cuando la presión del oxígeno aumenta, una célula falciforme irreversiblemente, tiene una alta concentración de hemoglobina y un contenido alto en calcio y bajo en potasio. Los trastornos de células falciformes varían en gravedad clínica desde el rasgo de células falciforme prácticamente asintomático hasta el estado potencialmente letal característico de la anemia de células falciformes, tanto los factores intracelulares como los extracelulares influyen en la falciformación como la concentración de nivel 2-3 bifosfoglicerato la concentración de iones de hidrógeno. <sup>5</sup>

El nivel de PO<sub>2</sub> que produce falciformación *in vitro* en eritrocitos, soporta una relación indirecta respecto de las medidas clínicas de la PO<sub>2</sub> arterial y venosa, lo que provoca la estasis vascular, el curso de acontecimientos conduce a la muerte tisular, manifestada clínicamente como una crisis dolorosa. Los infartos esplénicos y medulares debidos a estasis vascular son frecuentes y el priapismo puede ocurrir en el varón, puede haber desarrollo de úlceras en las piernas, lesiones retinianas y renales. <sup>5</sup>

Las temperaturas frías, retardan la polimerización de la Hb, las bajas temperaturas tienden a precipitar las crisis de falciformación por la vasoconstricción. <sup>5</sup>

La falciformación de los glóbulos rojos está influenciada por la concentración de Hb falciforme en las células. <sup>6</sup>

En anemia de células falciformes, los neutrófilos sobre expresan una variedad de moléculas de adhesión en su superficie que están implicadas en la adhesión celular y la migración transendotelial, por otra parte, la inhibición de la apoptosis en neutrófilos en la anemia de células falciforme, puede exacerbar la inflamación en la microcirculación y contribuir a la oclusión de los vasos, como la apoptosis de neutrófilos normales es esencial para la resolución de los procesos inflamatorios. <sup>7</sup>

Los eosinófilos son leucocitos multifuncionales pleiotrópicos que participan en la iniciación y propagación de diversas respuestas inflamatorias, a raíz de la participación de los receptores de citoquinas, inmunoglobulinas y complemento, pueden actuar como células pro inflamatorias mediante la liberación de una serie de citoquinas IL 2, IL-4, IL-5, IL-10, IL-12, IL-13, IL16, IL18, factor de crecimiento  $\alpha$  y  $\beta$  ( TGF- $\alpha$  y TGF- $\beta$ ), quimiocinas y mediadores lipídicos como factor activador de plaquetas (PAF) y el leucotrieno (LT). <sup>7</sup>

Los efectos de estas moléculas influyen en la regulación positiva de moléculas de adhesión, la modulación de tráfico celular, la activación y la regulación de la permeabilidad vascular, la secreción de moco en los tejidos epiteliales y constricción del músculo liso, como se ve en el asma. además, los eosinófilos pueden servir como principales células efectoras, la inducción de daño en el tejido y disfunción mediante la liberación de proteínas y mediadores de gránulos tóxicos, tales como neurotoxina derivada de eosinófilos (EDN), peroxidasa de eosinófilos (EoPo), la proteína catiónica de eosinófilos (ECP) y la proteína básica principal (MBP).<sup>7</sup>

Los eosinófilos de pacientes con anemia de células falciformes muestran una mayor adherencia a placas recubiertas con fibronectina, en comparación con los eosinófilos de individuos sin la enfermedad, sin embargo, la terapia con hidroxycarbamida tiene una menor capacidad de adhesión a la fibronectina, en comparación con los pacientes no tratados con esta droga, con una adherencia similar a la de los pacientes sin anemia de células falciformes.<sup>7</sup>

### **Hemoglobina Fetal (HbF)**

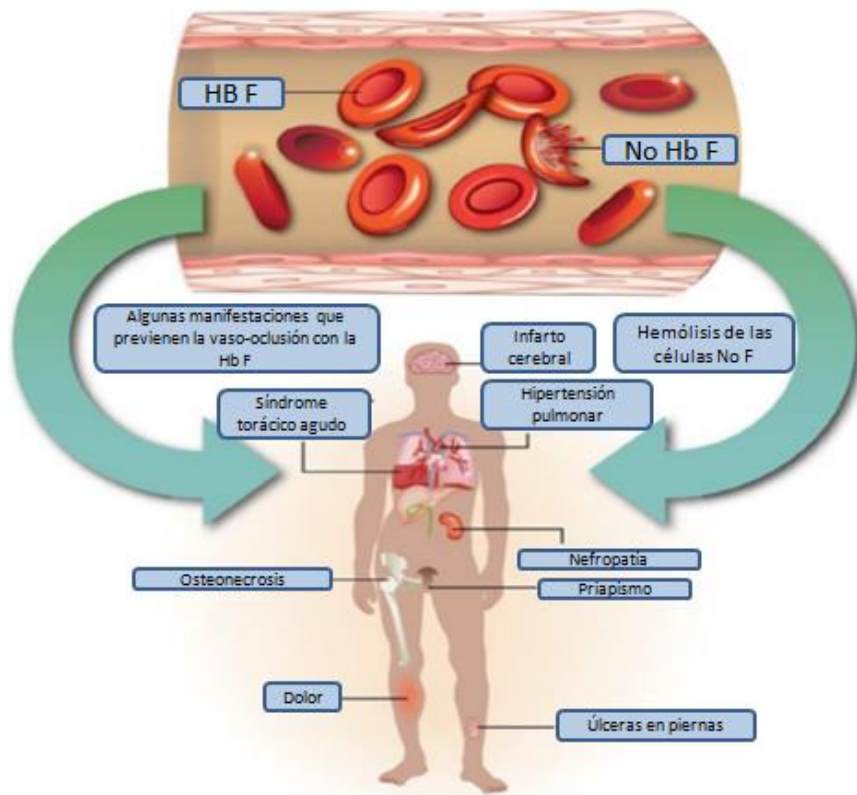
La HbF está compuesta por dos cadenas de polipéptidos  $\alpha$ -globina y dos cadenas  $\gamma$ -globina. Las cadenas  $\gamma$ -globina están codificadas por dos genes casi idénticos (HBG2 y HBG1) dentro de la agrupación de genes como  $\beta$ -globina en el cromosoma 11p, solamente difieren por un residuo de alanina o glicina en la posición aminoacídica  $\gamma$ 136. <sup>T</sup>  $\gamma$ - y <sup>A</sup>  $\gamma$ - globinas, ambas tienen efectos similares en la polimerización de HbS.<sup>8</sup>

Es una hemoglobina que se expresa durante toda la etapa fetal, desde el segundo trimestre de gestación hasta el sexto mes de vida, y presenta una alta afinidad por el oxígeno al compararla con HbA, Al realizar el cambio fisiológico de la eritropoyesis de hígado fetal a médula ósea, expresándose hemoglobina adulta (HbA).

HbF es el más potente modulador de las características clínicas y hematológicas en la anemia de células falciformes. Protege contra diversas complicaciones de la enfermedad, los niveles elevados de Hb F se asocian con una tasa reducida de episodios de dolor agudo, menos úlceras en las piernas, menos osteonecrosis, síndrome torácico agudo menos frecuentes, y la severidad de enfermedad reducida, sin embargo, tiene una débil o ninguna asociación clara con priapismo, excreción de albúmina en orina, accidente cerebrovascular e infarto cerebral silencioso, la presión arterial sistémica, y tal vez vasculopatía falciforme.<sup>8</sup>

Cuando los niveles totales de HbF son altos, tal vez la hemólisis intravascular de eritrocitos que contienen poco o nada de HbF conduce a suficiente eliminación de óxido nítrico por la hemoglobina libre en plasma puede provocar complicaciones relacionadas con la hemólisis. (Figura 1)<sup>8</sup>

**Figura 1:**



Con la rápida disminución en el número de eritrocitos circulantes fetales, la relación de  $\gamma$  a  $\alpha$ -globina cae de 0.7 a 0.4 en el nacimiento a la edad de 5 meses. Esto va acompañado de un descenso progresivo en el número de eritrocitos con HbF medible, llamados células F. En adultos normales, la HbF es menor al 1% de la hemoglobina total y se distribuye de forma desigual entre los eritrocitos. Los niveles de HbF observados en la anemia de células falciformes fluctúan entre 5% a 8%.<sup>8</sup>

La fisiopatología de la enfermedad de células falciformes es dependiente de la polimerización de la hemoglobina falciforme desoxigenada. El incremento de los niveles de HbF retarda este proceso.

La HbF reduce la concentración de HbS, pero lo más importante, es que no puede entrar en la fase de polímero de hemoglobina falciforme. Sin embargo, el tetrámero que contiene cadenas  $\beta$ -S y  $\beta$ -A, tienen 50% de probabilidad de formar polímeros como la HbS.<sup>8</sup>

**Clínica:**

El niño recién nacido está protegido por el alto nivel de hemoglobina fetal en los glóbulos rojos durante las primeras 8 a 10 semanas de vida, conforme el nivel de HbF disminuye, las manifestaciones clínicas de la enfermedad de células falciformes aparecen.<sup>7</sup>

La inflamación, los leucocitos y la adhesión celular al endotelio vascular y la lesión endotelial posterior contribuyen a la patogénesis de la anemia de células falciformes, los leucocitos parecen jugar un papel importante en la fisiopatología de la anemia de células falciformes, las crisis de dolor se asocian a menudo con un recuento de neutrófilos y son generalmente más altos en anemia de células falciformes, por otro lado la leucocitosis con predominio polimorfonucleares, se ha correlacionado con una mayor tasa de muerte prematura, el síndrome torácico agudo y accidente cerebrovascular entre los pacientes.<sup>7</sup>

Muchos pacientes con anemia de células falciformes están en razonable buena salud mucho tiempo, alcanzando un nivel estable, este estado relativo de bienestar puede ser interrumpido por crisis de comienzo súbito y ocasionalmente una evolución fatal.

Se dan varios tipos de crisis y éstas pueden clasificarse como crisis vaso-oclusivas, crisis aplásicas, crisis de secuestro y crisis hemolíticas.<sup>5</sup>

**Crisis vaso-oclusivas:**

La crisis vaso-oclusiva es la más frecuente y es la clave del paciente con enfermedad por células falciformes, la frecuencia con la que tales crisis ocurren, varían de casi diariamente a menos de una vez al año, resultan de interacciones complejas entre el endotelio, los factores plasmáticos, los leucocitos y los glóbulos rojos falciformes, que conducen a la obstrucción de los vasos sanguíneos. La hipoxia tisular ocurre y finalmente conduce a la muerte tisular y dolor localizado. La crisis vaso-oclusiva puede afectar cualquier tejido, pero el dolor se da especialmente en huesos, tórax y abdomen. Los infartos en el bazo pueden ser causa de dolor abdominal, son muy frecuentes en los niños de 5 a 6 años con anemia de células falciformes, el bazo generalmente se vuelve muy pequeño debido a la cicatrización lográndose lo que se denomina auto esplenectomía.<sup>5</sup>

Los eritrocitos de pacientes con anemia de células falciformes se adhieren anormalmente a las células endoteliales, cuando hay interacción entre endotelio, eritrocitos falciformes y leucocitos, los eritrocitos se adhieren a los leucocitos que son adherentes al endotelio de las vénulas post-capilares, lo que sugiere que los leucocitos pueden tener un papel dominante en el inicio de la vaso-oclusión.<sup>9</sup>

### **Crisis aplásica:**

Como en todas las anemias hemolíticas la supresión temporal de la eritropoyesis, puede resultar en una anemia grave. La aplasia de serie roja habitualmente viene precedida por un cuadro febril, muchos virus tienen capacidad de suprimir la actividad de la médula ósea, pero el que lo hace con más frecuencia es el parvovirus B19, presentándose en niños sanos la quinta enfermedad y en adultos con cuadros de poliartropatía.<sup>10</sup>

El fallo en la producción medular puede también provenir de una deficiencia de ácido fólico.<sup>5</sup>

### **Crisis hemolíticas:**

Los pacientes con enfermedad de células falciformes, presentan una elevada incidencia de reacciones hemolíticas transfusionales tardías, (RHTT) debido a la frecuente tasa de aloinmunización que se estima entre el 18 y el 36%. Aunque la mayoría de estas reacciones siguen el patrón típico de una RHTT, con la aparición de un nuevo aloanticuerpo a los 7 ó 10 días de la transfusión que genera una hemólisis extravascular y un Coombs directo positivo.<sup>10</sup>

Los pacientes con una anemia hemolítica crónica son especialmente propensos a formar cálculos de bilirrubina que pueden causar obstrucción biliar extrahepática. (Tabla 2).<sup>5</sup>

**Tabla 2: Características del síndrome hiperhemolítico (modificado de Petz)**

Hemólisis intravascular severa tras la transfusión de sangre.
Síntomas sugestivos de una crisis dolorosa.
La Hb después de la transfusión, cae por debajo del nivel pretransfusional.
Cursa con reticulocitos bajos
El estudio inmunohematológico es negativo o no explica el cuadro hemolítico.
Cuando se detecta un anticuerpo la transfusión de sangre compatible no evita la hemólisis.
Las transfusiones empeoran el cuadro que puede ser mortal.
La Hb se recupera y aparece reticulocitosis al evitar las transfusiones y añadir esteroides.
El síndrome puede reaparecer en sucesivas transfusiones.

El paciente comienza con fiebre, síndrome anémico severo, ictericia, hemoglobinuria y en casos más graves, insuficiencia cardíaca como consecuencia de la anemia.

Los pacientes con anemia de células falciformes, suelen presentar dolor durante la crisis hemolítica, lo que hace que esta complicación pueda confundirse con una crisis vaso-oclusiva, posiblemente por la disminución del óxido nítrico y vasoconstricción secundaria producida por la hemólisis intravascular.<sup>10</sup>

Las transfusiones pueden agravar el cuadro empeorando la hemólisis e incluso precipitando a la muerte del paciente.<sup>10</sup>

### **Crisis de secuestro:**

Las crisis de secuestro se observan en bebés y niños pequeños, se caracteriza por el súbito almacenamiento masivo de los glóbulos rojos, especialmente en el bazo, pueden desarrollarse shock hipovolémico y fallo cardiovascular, se considera una crisis mayor en la que el nivel de Hb es menor de 6 gr/dl o ha caído más de 3 gr/dl del valor basal.<sup>5</sup>

Los primeros estudios de los niños con enfermedad de células falciformes, sugirieron que el dolor puede ocurrir tan pronto como 6-12 meses de edad, típicamente se manifiesta como dactilitis, limitación de movilización de manos y dificultad para deambular.<sup>11</sup>

Los niños pequeños con anemia de células falciforme, tienden a ser más bajos de lo normal, con pubertad retrasada, la anemia hemolítica crónica con hiperplasia eritroide, produce un ensanchamiento de los espacios medulares, adelgazamiento de las corticales y escasez del patrón trabecular. Los cuerpos vertebrales pueden mostrar biconcavidades de las superficies superior e inferior, las crisis de dolor pueden ir seguida de la aparición de reacción perióstica, la dactilitis se debe a una necrosis avascular limitada a la médula, se da durante los primeros cuatro años de vida. La presencia de médula necrótica puede favorecer el desarrollo de infección, especialmente *S. aureus* y *Salmonella*, también puede embolizar el pulmón produciendo síndrome torácico.<sup>5</sup>

La médula renal es un área sensible al daño, la capacidad de concentración de orina está perdida en los pacientes con rasgo de células falciformes, los infartos pueden ocurrir con necrosis papilar renal, tanto en pacientes con enfermedad SS como en pacientes con rasgo de células falciformes.<sup>5</sup>

El priapismo es una complicación grave, involucra la erección sin deseo sexual, los varones prepuberales tienen episodios más cortos y un buen pronóstico para la función eréctil.<sup>12</sup>

La esplenomegalia es prominente en la primera infancia, pero la función esplénica está alterada y la incidencia de infecciones bacteriémicas es alta.<sup>5</sup>



La ictericia y la hepatomegalia son frecuentes en la anemia de células falciformes, el hígado puede estar agrandado hasta la cresta iliaca, particularmente en niños pequeños y edad media, el síndrome torácico agudo ejerce un fuerte efecto sobre el cuadro clínico, la combinación de velocidad de flujo elevado y oclusiones vasculares pulmonares, pueden provocar incremento de la presión pulmonar y finalmente Cor-pulmonale.<sup>5</sup>

La obstrucción de vasos retinianos va seguida de neovascularización con aneurismas arteriovenosos, pudiendo provocar hemorragia, cicatrización, desprendimiento de retina y ceguera. Los accidentes cerebrovasculares son una de las complicaciones más devastadoras, debido a la obstrucción de grandes vasos, particularmente carótida interna, cerebral media y anterior. El accidente cerebrovascular es mayor en niños, ocurre sin ningún aviso.<sup>5</sup>

Las úlceras alrededor de los tobillos, son un aspecto particularmente frecuente de la enfermedad de células falciformes, son infrecuentes en niños pequeños, comienzan como una brecha en la piel o como en un área parecida a una ampolla que se resquebraja, los pacientes con enfermedad de células falciformes son particularmente propensos a desarrollar infecciones debido a la asplenia funcional, la función fagocítica alterada y un defecto en la activación de la vía alternativa del complemento.<sup>5</sup>

### **Diagnóstico:**

El diagnóstico se realiza por electroforesis de hemoglobina, los métodos rápidos menos fiables para la detección de hemoglobina falciforme, incluyen la observación de falciformación de glóbulos rojos que contienen hemoglobina falciforme microscópicamente bajo un porta objetos, mediante la suspensión de células en una gotita de una solución al 2% de metabisulfito sódico y pruebas de solubilidad. La utilización de la reacción en cadena de la polimerasa para detectar la mutación falciforme es el método de elección para el diagnóstico prenatal.<sup>5</sup>

### **Tratamiento:**

Los pacientes con anemia de células falciformes están expuestos constantemente a peligros, particularmente infecciones, y crisis agudas, una vigilancia regular de la situación hematológica es necesaria, la profilaxis con penicilina ha mostrado disminuir la frecuencia de infecciones, el ácido fólico ha sido utilizado desde hace mucho tiempo, para la estimulación de producción de eritrocitos, la vacunación contra *Streptococo Pneumoniae* ha tenido éxito reduciendo la infección por este patógeno.<sup>4</sup>

Aún no hay ningún tratamiento específico plenamente satisfactorio, las transfusiones no suelen ser necesarias, excepto en circunstancias especiales como accidentes cerebro

vasculares, hallazgos anormales en el Doppler transcraneal, úlceras en las piernas o crisis dolorosas frecuentemente recurrentes o intratables, la transfusión profiláctica disminuye la frecuencia de las crisis pero requiere la administración de deferoxamina para prevenir la sobrecarga de hierro, el tratamiento transfusional está dirigido a mantener el nivel de hemoglobina por encima de los 10 gr/dl, la exposición al frío y altas altitudes debería evitarse.<sup>5</sup>

El tratamiento de la anemia de células falciformes incluye la prevención de las complicaciones con profilaxis con penicilina desde los tres meses de vida hasta los 5 años, en pacientes ya esplenectomizados, administrar indefinidamente, las vacunas apropiadas y las transfusiones de sangre para los pacientes en riesgo de accidente cerebro vascular.<sup>10</sup>

La prevención de la deshidratación de los eritrocitos dada por la pérdida de iones y agua a través de las vías selectivas de potasio. El rol de la transfusión crónica para la prevención de accidente cerebrovascular ha sido objeto de numerosas investigaciones.<sup>4</sup> Es bien conocido que el nivel de hemoglobina fetal producida por el paciente, influye en la severidad de anemia de células falciforme, por ejemplo, las poblaciones muestran que el incremento de HbF, determinada genéticamente tienen una manifestación leve de la enfermedad y la incidencia de complicaciones clínicas graves también es menos frecuente. Se ha observado que la azacitidina, induce la producción de HbF en adultos. La Hidroxiurea ha sido un tratamiento oral bien tolerado en algunos trastornos mieloproliferativos que también incrementa la HbF<sup>4</sup>

#### **Tratamiento del dolor vaso-oclusivo:**

Se inicia hidratación (2250 cc/m<sup>2</sup>) de solución mixta, además de monitoreo continuo y hemodinámico con oxigenoterapia dependiendo de la condición del paciente.

- **Analgesia :**
  - Ibuprofeno (5-10 mg/Kg/dosis)
  - Ketorolaco 0.5 mg/Kg/dosis IV cada 8 horas (máximo 30 mg).
  - Morfina (0,1-0,2 mg/Kg/dosis cada 4 horas) IV lento o en infusión continua 0,025 mg/Kg/hora y no hay límite superior.<sup>10</sup>
- En caso de crisis severa se debe transfundir concentrado de hematíes con disminución de la Hb al menos 2 gr, en caso de infección, se toma hemocultivo y urocultivo e inicio de antimicrobiano:
- Cefotaxima 150 mg/kg/día IV en tres dosis y dicloxacilina 100 mg/Kg/día IV durante un mínimo de 3 semanas o hasta normalización de PCR, continuando tratamiento oral hasta completar 4-6 semanas con Cefuroxima a 60 mg/Kg/día en tres dosis.<sup>10</sup>

En caso de crisis de dolor vaso-oclusiva de repetición valorar el uso de hidroxiurea como profilaxis, los pacientes con enfermedad de células falciformes, tienen una elevada incidencia de infecciones bacterianas, siendo la osteomielitis la segunda infección más frecuente en ellos. Los gérmenes implicados son: *Salmonella* (70%), *S. aureus* (10%), *Neumococo*, *H. influenza*, *Meningococo* y se sospecha clínicamente cuando existe la presencia de: dolor óseo, fiebre y aumento de reactantes de fase aguda.<sup>10</sup>

### **Tratamiento de fiebre sin foco infeccioso:**

Niños sin sepsis con antecedente de esplenectomía o sepsis, menores de 1 año, radiografía con infiltrado, leucocitosis mayor a 30 000 o menor a 5 000 se ingresan para inicio de tratamiento con Cefotaxima IV 150-200 mg/kg/día/ 6 hrs, de poderse manejar como paciente ambulatorio se inicia ceftriaxona 75 mg/kg IV y luego amoxicilina/clavulanato 100 mg/kg/d/8hr VO por 7 días.<sup>10</sup>

### **Tratamiento del dolor abdominal:**

No hay que dar dosis altas de analgésicos, dieta completa, valoración por cirugía, antibioterapia, hidratación y reposición de electrolitos se realiza colecistectomía electiva después del episodio agudo (6 semanas) para evitar adherencias.

La colecistectomía de urgencia y extracción de cálculos por una colangiopancreatografía retrógrada endoscópica, se realiza si hay obstrucción de la vía biliar o empeoramiento de la función hepática.

En caso de hepatitis vírica, no hay medidas terapéuticas especiales.

Hepatotoxicidad inducida por fármacos: 10 % de los tratados con hidroxiurea, se normalizan cuando se suspende el fármaco.<sup>10</sup>

### **Tratamiento del secuestro esplénico:**

Corregir la hipovolemia con cristaloides, transfusión urgente para llevar la Hb a 8 g/dl, se recomienda exanguinotransfusión si hay signos de distrés respiratorio, hay que reevaluar cada 4 horas y considerar esplenectomía urgente si no hay mejoría, iniciar tratamiento con hidroxiurea.<sup>10</sup>

### **Tratamiento de accidente cerebrovascular:**

Manejo por terapia intensiva, valoración por Neurocirugía y Neurología, estabilizar signos vitales, colocación de vía central, valorar ventilación mecánica, oxigenoterapia para mantener  $SO_2 > 96\%$ , si hay fiebre iniciar con Cefotaxima (200 mg/Kg/día cada 8 horas), añadir Vancomicina (60 mg/Kg/día cada 6 horas) si sospecha de sepsis o meningitis.<sup>10</sup>

Exanguinotransfusión parcial urgente o posible transfusión simple si  $Hb < 6$  g/dl, para conseguir una  $HbS < 20\%$  en como máximo 48 horas, y una  $Hb < 10$  g/dl (o la basal del paciente).

Trasplante de progenitores hematopoyéticos si hay donante.<sup>10</sup>

### **Tratamiento de síndrome torácico agudo:**

*Antibioterapia empírica al diagnóstico:*

- Cefotaxima 150-200 mg/Kg/día cada 6-8 h, máximo 12 g/día.
- ceftriaxona 50 mg/Kg./dosis, 1 ó 2 dosis/día. máximo 2 g/dosis + azitromicina 10 mg/g/día en 1 dosis o claritromicina 15 mg/Kg./día cada 12h, máximo 500 mg/dosis).<sup>10</sup>

*Sospecha clínica o bacteriológica de S. aureus:*

- Cefuroxima (150-200 mg/Kg/día cada 8h) o amoxicilina-clavulanato (100-150 mg/kg/día c/6-8 h).
- Si se agrava :
- Vancomicina (15 mg/Kg/8 horas IV), o linezolid (10 mg/kg/dosis cada 8 h si < 12 años, cada 12 h si  $\geq 12$  años), penetra mejor a parénquima pulmonar.

*En alérgicos a betalactámicos:*

- clindamicina (10 mg/Kg/6 horas IV) + ciprofloxacino o levofloxacino oral (10 mg/Kg/12 horas en <5 años y cada 24 horas en >5 años).
- Toracocentesis en caso de derrame pleural:
- Hidratación: 1500 ml/m<sup>2</sup>/día,

Transfusión de concentrado eritrocitario para incrementar oxigenación.<sup>10</sup>

### **Tratamiento transfusional:**

El objetivo de la terapia de transfusión en pacientes con anemia de células falciformes, es reemplazar los eritrocitos falciformados con eritrocitos normales, restablecer el flujo sanguíneo e incrementar la capacidad del transporte de oxígeno. Una simple transfusión puede incrementar la falla cardíaca asociada a un déficit en el transporte de oxígeno, disnea y fatiga severa, múltiples transfusiones indican anemización, secuestro esplénico, síndrome torácico agudo, sepsis severa y secuestro agudo hepático. En algunos pacientes con úlceras en extremidades, dolor crónico, la reducción de HbS puede ser una opción terapéutica, la transfusión sanguínea, reduce las complicaciones hemolíticas y vaso-oclusivas, incrementando la capacidad del transporte de oxígeno y disminuyendo la viscosidad sanguínea. Sin embargo, dentro de las complicaciones de la transfusión podemos encontrar la aloinmunización y la sobrecarga de hierro.<sup>4</sup>

### **Tratamiento quelante:**

Hay que iniciar la quelación cuando la ferritina se encuentre >1000 ng/ml en al menos 2 determinaciones, o si la cuantificación de hierro en biopsia hepática o por RM hepática es >7 mg/gr de peso seco ( $\times 17 = 120 \mu\text{mol/g}$ ), sin embargo, se tiene que tener en cuenta su nivel como reactante ya que el déficit de vitamina C debido a la rápida oxidación puede disminuir falsamente su nivel.<sup>10</sup>

### **Hidroxiurea:**

La Hidroxiurea fue sintetizada originalmente en 1869, fue hasta 1928 que se reconoció su importancia biológica potencial, desde 1960 ha atraído interés ya que tiene efectos biológicos únicos, y sorprendentemente diversos que llevaron a explorar su utilidad clínica como fármaco anti leucémico, sensibilizador de la radiación e inductor de la hemoglobina fetal en pacientes con anemia de células falciformes.<sup>13</sup>

Inhibe la enzima reductasa de difosfato de ribonucleósidos, ésta enzima que cataliza la conversión reductiva de ribonucleótidos en desoxirribonucleótidos. Destruye un radical libre de tirosil, que une hierro en el centro catalítico de la subunidad h RRM2 de la reductasa de ribonucleótido humano. El fármaco es específico para la fase S del ciclo celular, es mediada por mecanismos dependientes e independientes de p53.<sup>13</sup>

La hidroxiurea es el único medicamento modificador de la enfermedad que está aprobado por la FDA para la anemia de células falciformes.<sup>14</sup> múltiples ensayos clínicos

muestran que la hidroxiurea puede reducir el dolor vaso-oclusivo y episodios de síndrome torácico agudo y también la mortalidad en pacientes adultos con anemia de células falciformes.<sup>14</sup> En los niños, la baja adherencia al tratamiento con hidroxiurea limita en gran medida su uso eficaz en la práctica clínica.<sup>14</sup>

El mecanismo por el cual la hidroxiurea reduce la frecuencia de las crisis vaso-oclusivo no está claro, pero se conoce que la proporción de HbF aumenta a partir de la octava semana del tratamiento, así como los cambios en el VCM, lo que puede reflejar propiedades alteradas de la membrana eritrocitaria, se incrementa además el agua de los eritrocitos, con mayor deformabilidad y disminución de la adherencia de los glóbulos rojos al endotelio.<sup>15</sup>

La hidroxiurea fue inicialmente utilizada para el tratamiento de la anemia de células falciformes, ya que aumenta la proporción de HbF en los glóbulos rojos falciformes, lo que interfiere con la polimerización de la hemoglobina falciforme, sin embargo, además de reducir el recuento de glóbulos blancos, también inhibe la adhesión de leucocitos a la microvasculatura y reduce la adhesividad de los leucocitos para los glóbulos rojos falciformes.<sup>9</sup>

Alrededor de un tercio de los pacientes con anemia de células falciformes tienen dolor casi a diario; se podría esperar que la dosis de hidroxiurea adecuada inhiba el desarrollo de crisis vaso-oclusivas para reducir este dolor.<sup>9</sup>

La hidroxiurea ha sido la terapia estándar en pacientes con historia de síndrome torácico agudo y anemia de células falciformes asociadas a episodios de dolor, reduce la velocidad del ultrasonido Doppler transcraneal, 11% de los pacientes con HbS ya han presentado oclusión intracraneal a la edad de 20 años.<sup>16</sup> Esto ha sido investigado para prevención de oclusión primaria y secundaria en anemia con células falciformes, con beneficios en la reducción secundaria de oclusión cerebral, sin embargo no se ha establecido como alternativa para la terapia de transfusión crónica en pacientes con alto riesgo de oclusión.<sup>16</sup>

Se ha demostrado que la hidroxiurea, en el tratamiento de pacientes con HBSD Punjab, una rara hemoglobinopatía con expresión fenotípica similar a la anemia de células falciformes tiene una buena respuesta con disminución de las manifestaciones clínicas y baja toxicidad a corto plazo.<sup>17</sup>

La Hidroxiurea, disminuye fenómenos vaso-oclusivos en pacientes con enfermedad de células falciformes, incluyendo sucesos dolorosos, síndrome torácico agudo y

apoplejías secundarias a través de varios posibles mecanismos. El aumento de la expresión de Hb F y la síntesis de la misma pueden deberse a que se suprime la proliferación del precursor eritroide con estimulación compensadora de un grupo preciso de células que producen Hb fetal.<sup>13</sup>

Se sugirió un mecanismo alternativo por la capacidad de la Hidroxiurea de generar óxido nítrico tanto *in vitro* como *in vivo*, y causa nitrosilación de trifosfatasas de guanosina de peso molecular pequeño que estimula la producción de gamma globina en precursores eritroides. Mediante la inducción de HbF se favorece la solubilidad de la Hb dentro de los glóbulos rojos, asimismo, reduce la adherencia de estas células al endotelio vascular, suprime la producción de neutrófilos y disminuye su contribución a la oclusión vascular, reduce de manera específica la expresión de moléculas de adherencia como L- selectina en neutrófilos.<sup>13</sup>

La biodisponibilidad oral de la hidroxiurea es excelente, y se observan concentraciones comparables en plasma, después de dosis orales o intravenosas, las concentraciones máximas en plasma, se obtienen 1 a 1.5 hrs después de dosis orales de 15 a 80 mg/kg, con una vida media de 3.5 a 4.5 hrs. El fármaco cruza con facilidad la barrera hematoencefálica y aparece en cantidades importantes en la leche materna, el 40 a 80% del medicamento se recupera en la orina en el transcurso de 12 hrs posterior a la administración, el principal efecto tóxico, es depresión hematopoyética que incluye leucopenia, anemia megaloblástica y en ocasiones trombocitopenia, otras reacciones adversas incluyen neumonitis intersticial descamativa, alteraciones gastrointestinales y reacciones dermatológicas leves, más rara vez, estomatitis, alopecia, manifestaciones neurológicas.<sup>13</sup>

La hidroxiurea se ha utilizado en bebés y niños pequeños con anemia de células falciformes, con episodios menos frecuentes de dolor, dactilitis, y accidente cerebrovascular, lo que disminuyó el gasto en los pacientes en un 21% por disminución en atención hospitalaria ya que hubo menores crisis de dolor.<sup>18</sup>

Se ha demostrado que la hidroxiurea con dosis inicial de 15 a 20 mg/kg/día es bien tolerada, y puede ser incrementada gradualmente cada 8 semanas en 5 mg/kg, con poca mielosupresión y mantener el conteo de neutrófilos absolutos entre 2000 - 4000 x 10<sup>9</sup>.<sup>19</sup>

En la población infantil la utilización de hidroxiurea ha sido diferente porque los efectos favorables y desfavorables a mediano y largo plazo aún se desconocen porque los grupos de investigación clínica internacional han incluido pocos pacientes y el seguimiento ha sido menor de cinco años.<sup>20</sup>

## **Transplante de médula ósea:**

Los niños y adolescentes, menores de 16 años de edad, que tienen complicaciones severas (accidente vascular cerebral, síndrome torácico agudo o dolor constante) que tienen un donador HLA compatible, son los mejores candidatos para el transplante, el único tratamiento curativo. Sin embargo, el 5-10% de los pacientes, mueren por complicaciones relacionadas al transplante, en otro 10% puede regresar la anemia de células falciformes.

La terapia génica es una opción prometedora, como transplante autólogo de las células madre hematopoyéticas.<sup>4</sup>

## **Complicaciones:**

La aparición de crisis de dolor a menudo se inicia en el primer año de vida y aumenta progresivamente hasta alcanzar la expresión de toda la HbS y presentar una crisis de dolor a los 4.9 años, en los pacientes con HbSC llegan a experimentar una crisis dolorosa a los 7.1 años de edad.<sup>21</sup> El dolor de la oclusión vascular representa una complicación importante que contribuye a la reducción de la calidad de vida de muchos niños con anemia de células falciformes.<sup>21</sup>

Las guías de la National Heart Lung and Blood Institute recomiendan comenzar a los dos años de edad a identificar el riesgo de oclusión en pacientes con anemia de células falciformes y alto riesgo de oclusión cerebral, la transfusión crónica es recomendada en pacientes en los que se identificó alto riesgo con velocidad de flujo sanguíneo cerebral > 200 cm/s.<sup>16</sup>

El seguimiento de ultrasonido Doppler transcraneal es recomendado hacerlo cada año, si el resultado fue normal o <170 cm/s, cada 4 meses, si el resultado fue de 170 a 199 cm/s, y de dos a cuatro semanas, si el resultado fue anormal o (> 200 cm/s)<sup>2,16</sup>

El infarto cerebral silente, es la complicación neurológica más común en niños con anemia de células falciformes, la cual se define mediante una resonancia magnética.<sup>16</sup> Entre el 13% y el 28% de los niños con anemia de células falciformes tienen infarto cerebral silente, observado en resonancia.<sup>16</sup>

La hidroxiurea, es un fármaco importante y con buenos resultados en niños con enfermedad de células falciformes ya que reduce las complicaciones de la enfermedad en niños tratados a temprana edad como menores de un año, a pesar de su eficacia, es poco utilizada en Estados Unidos, la fórmula ha sido aprobada por la FDA, sin embargo,



sólo existe presentación en cápsula, por lo que los niños pequeños suelen tener dificultad para tragar el medicamento, lo que podría disminuir la absorción y la adherencia al tratamiento.<sup>22</sup>

Los niños tienen dificultades para lograr adherencia a la medicación, dependen de cuidadores para recordar y les ayuden con sus medicamentos, esto requiere que el niño sea cooperador y el cuidador sea persistente.<sup>14</sup>

La hidroxiurea es un medicamento que requiere meses antes de observar los beneficios clínicos, todo esto puede disminuir la eficacia, no puede eliminar por completo las complicaciones y los pacientes que continúan teniendo algunos síntomas, pueden ser menos propensos a ver el total del impacto de la hidroxiurea, por lo tanto más propensos a dejarla.<sup>14</sup>

### **Dolor:**

La evaluación del dolor en el niño, es difícil de realizar por la inexactitud de la comunicación verbal en los primeros años de vida. Los niños antes de hablar, no pueden solicitar analgésicos. Los preescolares tienen dificultad en expresar lo que sienten. Los escolares y los adolescentes tienen temor a pedirlos por miedo a las inyecciones intramusculares.<sup>23</sup>

El tratamiento adecuado del dolor en los niños no solo disminuye las complicaciones, sino que además evade la aparición futura de respuestas dolorosas desproporcionadas ante mínimos estímulos.<sup>24</sup>

El dolor es un hecho privado, personal y subjetivo que solo puede medirse objetivamente utilizando una de tres estrategias.

- Atender a lo que el niño dice sobre el dolor que siente (medidas de auto informe).
- Atender a la forma en que reacciona el niño en respuesta al dolor (medidas conductuales).
- Atender a la forma en que reacciona el organismo del niño al dolor (medidas fisiológicas).<sup>25</sup>

No existe una técnica ideal de valoración, un observador objetivo debe evaluarlo especialmente en niños en etapa pre verbal, combinando sus observaciones con la evaluación de los padres, o con lo referido por el mismo paciente si este es capaz de verbalizarlo. Todos los sistemas de evaluación objetivos se basan en signos físicos de actividad simpática, combinados con los elementos de comportamiento.

A veces es difícil discernir entre los cambios en las conductas asociadas al dolor y los causados por miedo necesidad del contacto con los padres y la aprehensión. La opinión de los padres es valiosa en muchos casos, pero se debe tener en cuenta que los padres pierden objetividad en algunas ocasiones.<sup>25</sup>

Debido a que el dolor es una experiencia subjetiva, se debe utilizar siempre que sea posible una escala de autoevaluación.<sup>25</sup>

Hay que resaltar que el dolor es tan subjetivo que va más allá de la simple percepción del dolor, tiene que ver también el estado de ánimo, las experiencias previas, la personalidad, la educación, la cultura y el momento mismo de sentir esa molestia.<sup>25</sup>

Existen diversas escalas de medida del dolor, basadas en sistemas gráficos, analógicos o numéricos. La elección de la escala no es tan importante como la aplicación regular de alguna forma de evaluación sistemática del dolor. En cualquier caso, deben utilizarse aquellas escalas que se adapten mejor a la edad y a la situación del paciente. Las escalas a aplicar según la edad del paciente pueden ser objetivas o subjetivas.<sup>26</sup>

Las escalas conductuales valoran las actitudes y el comportamiento de los niños ante el dolor. La escala FLACC considera estos 5 datos: cara, movimiento de piernas, actividad, llanto, si el niño se consuela.<sup>26</sup>

En niños pequeños, las escalas conductuales y fisiológicas podrán valorar la percepción del dolor de forma objetiva y sin molestar al paciente.<sup>26</sup>

Se han desarrollado gran número de escalas objetivas de dolor, como la Washington DC Pediatric Objective Pain Scale, validada para niños en edades preverbal y escolar, así como la escala CRIES ( del inglés: Crying, requires oxygen to maintain saturation > 95%, increased vital signs, expression, sleeplessness) desarrollada por Krechel y Bildner para evaluar el dolor postoperatorio del recién nacido.<sup>27</sup>

Las escalas de valoración del dolor, deben realizarse en un ambiente lo más relajado posible, eliminando actitudes y manipulaciones que incomoden al niño, previas a cualquier maniobra potencialmente dolorosa y con la presencia y apoyo de los padres.<sup>26</sup>

Las escalas subjetivas son más útiles, ya que es el paciente el que define su dolor; tipo de dolor, la distribución anatómica, frecuencia y duración, así como factores específicos que lo hacen mejorar o empeorar. En ellas se traduce la percepción del dolor por parte del niño a valores numéricos o analógicos.<sup>26</sup>

En la experiencia dolorosa se distinguen tres dimensiones o componentes:

- Sensorial discriminativa: ¿cómo se siente?

- Afectiva emocional: ¿Cómo me altera?
- Cognoscitiva-evaluativa: ¿Qué significa?

Las escalas utilizadas en la práctica diaria podemos dividir las en dos grandes grupos:

- Escalas unidimensionales: Miden una sola faceta del dolor: la intensidad.
- Escalas multidimensionales: Pretenden, además, evaluar las otras dimensiones del dolor, como es el grado de repercusión en la actividad diaria, estado de ánimo, sueño, etc.

Las escalas unidimensionales están especialmente indicadas para la utilización en la valoración del dolor agudo. Para el dolor crónico las escalas multidimensionales nos proporcionan una idea más completa del grado de afectación del paciente por el dolor.<sup>27</sup>

Dentro de las escalas unidimensionales se encuentran las siguientes:

Escala análoga visual: es una de las escalas más comunes para medir el dolor agudo y el crónico. Línea de 10 cm, un extremo está etiquetado como sin dolor, y el extremo opuesto, el máximo dolor imaginable; se pregunta al paciente para que haga una señal que represente su dolor. Es fiable y fácil de usar aunque requiere un cierto nivel de función cognitivo. Otras variaciones de esta escala incluyen la escala analógica coloreada. (Anexo 1).<sup>27</sup>

Escala de dibujos faciales: Constan de un cierto número de caras (normalmente de 5 a 10), con distintas expresiones de malestar graduadas de forma ascendente. Para su uso se pide al paciente que imagine que las caras corresponden a un niño que padece su misma enfermedad. Posteriormente se le indica que valore su miedo o ansiedad indicando la cara que mejor representa lo que siente en ese momento. La parte posterior es una regla graduada que permite convertir la señal del niño en datos numéricos. Se han elaborado diversas versiones de este instrumento, variando tanto el número de caras como el nivel de evaluación de sus propiedades psicométricas. Ejemplos de estos instrumentos son “la escala de las nueve caras”, “la escala de siete caras”, “la escala de caras de Wong-Baker” y el “termómetro del miedo” (Anexo 1)<sup>28</sup>

Escala de descripción verbal: se da a elegir al paciente la palabra que mejor describe su dolor. Puede ser fácil en dolor crónico pero requiere que el paciente entienda bien las palabras y conceptos. (Anexo 1)<sup>27</sup>

Escalas numéricas: pregunta al paciente que señale un número del 0 al 10 (o del 0 al 100), 0 representa sin dolor y 10 o 100 el mayor dolor imaginable. (Anexo 1)<sup>27</sup>

En general hay que asumir que los niños con una patología que indefectiblemente producirá dolor deben ser tratados como si lo tuvieran, aunque el dolor no sea fácilmente detectable a causa de la patología subyacente, los tratamientos

farmacológicos, la incapacidad para expresar el dolor por la edad o el déficit neurológico.<sup>29</sup>

Ya que una buena parte de la ansiedad, puede resolverse por medios no farmacológicos, hay que asumir un conjunto de normas destinadas a reducir al máximo el impacto ambiental generador de miedo y ansiedad en el niño.<sup>29</sup>

### **Escalas multidimensionales:**

Además de la intensidad del dolor, estas escalas aportan más información sobre las características del dolor y los efectos sobre la vida diaria del paciente. La valoración de la interferencia del dolor en las actividades diarias es importante.

De las múltiples escalas multidimensionales el cuestionario Breve para la Evaluación del Dolor es fácil y rápida de realizar, incluso por el propio paciente. Originalmente se creó para la valoración del dolor en el cáncer, aunque ha demostrado su utilidad en otros procesos como el dolor por VIH, artritis etc. Cuantifica la intensidad del dolor y el efecto que éste tiene en múltiples funciones (actividad general, ánimo, capacidad de caminar, trabajo normal, relaciones sociales y disfrute de la vida y sueño. (Anexo 2)<sup>29</sup>

El cuestionario del dolor de McGill es el instrumento de evaluación de dolor de mayor difusión. El MPQ consta de 20 subclases de descriptores verbales de dolor que miden las dimensiones (categorías) sensorial, afectiva y evaluativa. También se otorga una puntuación de intensidad para cada descriptor dentro de cada subclase. Seis de los 84 ítems permiten obtener un índice que mide la intensidad del dolor en su conjunto.<sup>30</sup> Los cuestionarios pueden ser una fuente de información adicional sobre la causa del dolor, las actitudes del niño, su entendimiento del dolor, el entorno familiar, habilidad verbal para describir conocer las experiencias anteriores de dolor. Tiene en cuenta el estado de desarrollo de los niños valorando la intensidad, sensibilidad, afectividad, cualidad y localización.<sup>30</sup>

## **JUSTIFICACIÓN:**

En México, la anemia de células falciformes es una enfermedad poco frecuente, de alto interés en el ámbito de la hematología ya que representa alta morbilidad, por la presencia de dolor asociados a crisis vaso-oclusivas secundarias a desoxigenación de la hemoglobina.

La anemia de células falciformes es un problema de salud cuya etiología amerita investigarse a fin de encontrar el mejor manejo para disminuir las crisis de dolor secundarias a crisis vaso-oclusivas, mediante la utilización de un fármaco específico. Las crisis de dolor secundarias a crisis vasos oclusivas, se encuentran en el 100% de los pacientes con anemia de células falciformes y puede causar otros trastornos que pueden generar daño irreversible de la función de varios órganos, y deterioro del bienestar físico, mental y social de los pacientes y sus familiares. La gravedad de la enfermedad se presenta con mayor frecuencia en pacientes homocigotos, presentando crisis de dolor frecuentes, síndrome torácico agudo, anemia severa o sintomática < 7 gr/dl. Por las complicaciones graves antes mencionadas se demandan la intervención hospitalaria y de diversos servicios del hospital, lo que incrementa costos que podrían ser evitados. La realización del presente proyecto pretende valorar si existe mejoría del dolor y disminución de crisis vaso-oclusivas, en los pacientes tratados con hidroxiurea, lo que facilitará en el futuro el manejo de los pacientes con anemia de células falciformes y disminuirá las complicaciones derivadas de crisis vaso oclusivas.

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Aunque de otros estudios realizados en E.U se puede inferir que las crisis vaso-oclusivas que ocasionan enfermedad invasiva en niños, debieran ser frecuentes en derechohabientes del IMSS en Jalisco, en la UMAE Pediatría se observaron en el servicio de hematología en el transcurso del año 2013, solo dos pacientes con crisis: un paciente masculino hospitalizado por crisis vaso-oclusivas y otra paciente con ultrasonido transcraneal alterado. Cabe mencionar que la mayoría de los casos de crisis vaso-oclusivas no son enviadas a tercer nivel, sino resueltas en sus clínicas de 2º nivel a menos que no haya respuesta favorable al tratamiento, antes de que se empleara la hidroxiurea, a nivel mundial el 100% de la población pediátrica con anemia de células falciformes tenían crisis de dolor, secundarias a crisis vaso-oclusivas en algún momento de la vida, sin embargo el inicio de la terapia de tratamiento con hidroxiurea disminuyó la frecuencia e intensidad de las crisis de dolor, con disminución a su vez de efectos secundarios, dentro de los cuales se encuentran crisis vaso-oclusivas cerebrales, priapismo, dactilitis, úlceras, síndrome torácico agudo, anemia severa, entre otras.

La utilización de escalas unidimensionales y multidimensionales podrían ser de utilidad para un diagnóstico más específico del dolor en los pacientes con anemia de células falciformes, ya que además de medir intensidad se podrán evaluar las otras dimensiones del dolor, como es el grado de repercusión en la actividad diaria, estado de ánimo, sueño, entre otras, sin embargo también tienen limitaciones ya que el dolor es subjetivo y es difícil realizar la evaluación en niños por la inexactitud de la comunicación verbal sobre todo en los más pequeños, la dificultad del paciente para expresar lo que sienten o el miedo a recibir tratamiento inyectado.

La UMAE Pediatría del CMNO es un centro de referencia para pacientes pediátricos con patologías poco frecuentes en la población general, como lo es la anemia de células falciforme en el occidente del país, contando actualmente con una población activa estimada en 10 pacientes, de los cuales solamente uno recibió tratamiento de hospitalización por crisis vaso-oclusivas y el resto refiere crisis esporádicas de dolor en el expediente, por lo que en el presente proyecto de investigación surge la siguiente pregunta de investigación:

¿Existe mejoría del dolor secundario a crisis vaso-oclusivas en pacientes tratados con hidroxiurea y diagnóstico de anemia de células falciformes, atendidos en UMAE Pediatría CMNO?

## **OBJETIVOS:**

- ***General***

Evaluar el efecto de la terapia con hidroxiurea sobre los niveles de Hemoglobina fetal y si existe mejoría en los eventos de dolor secundarias a crisis vaso-oclusivas en pacientes con anemia de células falciformes tratados con hidroxiurea en UMAE pediatría CMNO.

- **Específicos:**

Evaluar mediante cuestionarios de dolor agudo o crónico, la intensidad del dolor mediante escalas unidimensionales (escala de dibujos faciales y escala numérica) o si existe repercusión en la actividad diaria, estado de ánimo, sueño, entre otras, mediante escalas multidimensionales (cuestionario breve para la evaluación del dolor).

Medir el porcentaje de Hemoglobina Fetal en los pacientes incluidos en el proyecto.

## **HIPOTESIS:**

El tratamiento con hidroxiurea incrementa el nivel de hemoglobina fetal y reduce

Los eventos de crisis de dolor en pacientes con anemia de células falciformes, tratados en UMAE pediatría CMNO.

## **MATERIAL Y METODOS:**

**Diseño:** Se propone un diseño de estudio que de acuerdo a la finalidad es considerado del tipo descriptivo, por la secuencia temporal es transversal, por el control de la asignación de los factores de estudio es observacional y en relación a la cronología de los hechos, se considera ambispectivo ya que se incluirán el porcentaje de hemoglobina fetal, así como valoración del dolor previo al inicio del tratamiento con hidroxiurea realizados previo al inicio de este estudio como parte del protocolo de tratamiento en el servicio de hematología pediatría a pacientes con anemia de células falciformes, con inclusión de pacientes nuevos posterior al inicio del estudio y toma de muestra posterior al tratamiento con hidroxiurea en pacientes con al menos dos meses de tratamiento.

**Población de estudio:**

Pacientes pediátricos con diagnóstico clínico y genético de anemia de células falciformes, de 6 a 16 años de edad, de ambos sexos, provenientes de los diferentes estados asignados a la zona de influencia de centro médico nacional de occidente. El universo de estudio consta de 11 pacientes, 6 masculinos 5 femeninos, que serán invitados a participar en este proyecto.

**Criterios de inclusión:**

Pacientes que cuentan con estudio bioquímico de porcentaje de hemoglobina fetal y estudio genético para anemia de células falciformes.

Que se encuentre bajo tratamiento con hidroxiurea de al menos dos meses de evolución en UMAE Pediatría CMNO.

**Criterios de no inclusión:**

Pacientes adolescentes del sexo femenino con embarazo o sexualmente activas que no utilicen algún método anticonceptivo.

Pacientes con enfermedad hepática activa (infección por HBV o HCV).

**Criterios de exclusión:**

Pacientes que no hayan tomado adecuadamente su tratamiento, o se haya omitido durante más de tres días a la semana.

Pacientes que hayan presentado toxicidad grave o hipersensibilidad al tratamiento con hidroxiurea.

**Tamaño de la muestra:** Realizaremos un estudio censal donde de primera instancia se invitaran a todos los pacientes que cumplan los criterios de inclusión a participar. Por lo que no emplearemos fórmula para tamaño de muestra.

**Análisis estadístico.**

Se realizarán las pruebas **estadísticas comparativas** clásicas (Tabla de razón de prevalencia que incluye  $Ji^2$ , comparación de grupos independientes mediante sus proporciones). Se empleará el programa SPSS v18.

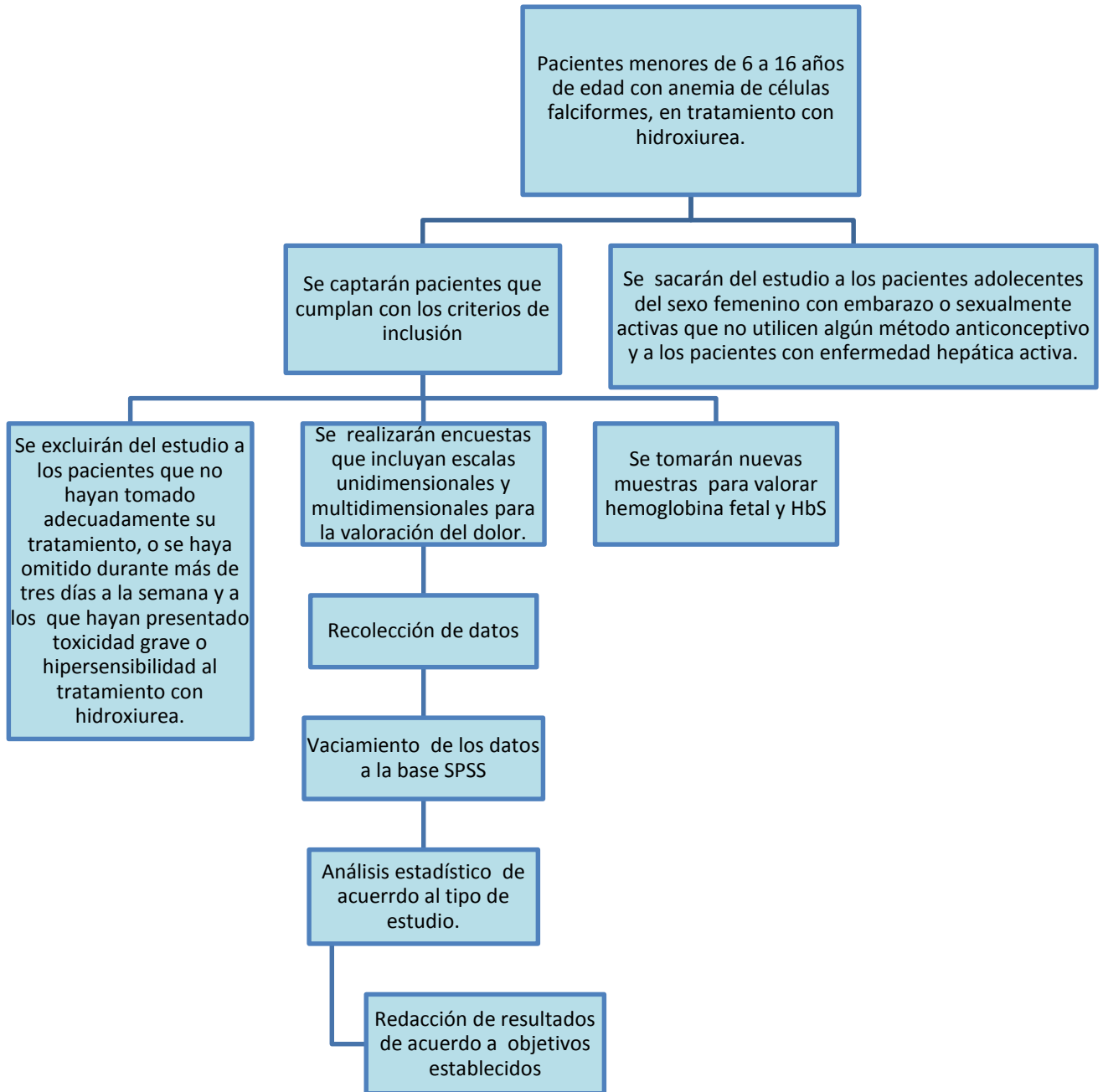


- **VARIABLES:**
  - **Independientes:**
    - Hidroxiurea
  - **Dependientes:**
    - Crisis de dolor secundarias a vaso-oclusión.
    - Escalas de dolor unidimensionales o multidimensionales
    - Hemoglobina Fetal

### **Descripción de la metodología a emplear:**

1. A los pacientes que cumplan con los criterios de inclusión, y cuando sus padres o tutores, hayan firmado el consentimiento informado para su incorporación al estudio, se realizarán exploración física, llenado de la ficha de datos (Anexo 3), cuestionarios de dolor mediante escalas unidimensionales y multidimensionales, (anexo 1 y 2) después de al menos dos meses de tratamiento con hidroxiurea, además, se realizara toma de muestra para cuantificar hemoglobina fetal por los métodos de desnaturalización alcalina (Anexo 4) en el servicio de consulta externa de hematología pediátrica de la UMAE Hospital de Pediatría del CMNO, se registrarán en la base de datos estando presente el investigador responsable para registrar y atender posibles efectos adversos.
2. En el laboratorio de bioquímica II de la división de Genética del CIBO-IMSS se determinará si hay incremento de la Hemoglobina Fetal y cuantificación de Hb S mediante microcromatografía de intercambio iónico (Anexo 5).
3. Las escalas de dolor utilizadas serán escalas unidimensionales (Anexo 1) y multidimensionales (Anexo 2), para valoración de dolor tanto agudo, como crónico respectivamente, las escalas unidimensionales que se utilizarán en este proyecto serán: la escala de expresión facial (Presenta 6 a 8 dibujos de expresiones faciales que indican un rango de emociones. Esta escala puede ser útil en niños, en pacientes que tengan una alteración cognitiva media-moderada, o en pacientes con algún problema en el lenguaje) y la escala numérica (el paciente elige un número que refleja el nivel de su dolor, donde 10 representa el peor dolor). Estas escalas, miden una sola faceta de dolor, en este caso la intensidad. La escala multidimensional que se utilizará será: el cuestionario breve para la evaluación del dolor (edición corta). Pretende evaluar otras cuestiones del dolor como el grado de repercusión en la vida diaria, estado de ánimo, sueño, entre otras, proporcionando una idea más completa del grado de afectación del paciente por el dolor. Originalmente se creó para la valoración del dolor en el cáncer, aunque ha demostrado su utilidad en otros procesos crónicos.

## Desarrollo del estudio:



**Aspectos éticos:**

El protocolo se ajusta a las normas internacionales para la investigación médica en seres humanos promulgadas por la Asociación Médica Mundial en la Declaración de Helsinki. Debido a que se realizará cuestionario para la valoración del dolor con escalas multidimensionales y unidimensionales aprobadas, las cuales no tienen ningún riesgo para el paciente, por lo que no requiere de consentimiento informado, sin embargo se realizará firma de la carta para la mejor comprensión del paciente y su tutor ya que se realizará una toma de muestra sanguínea para valoración del porcentaje de Hb Fetal, el cual es un estudio que se toma para el control del tratamiento utilizado en el paciente con anemia de células falciformes. El anonimato será resguardado mediante la codificación de las encuestas y la muestra. Es un estudio con riesgo menor al mínimo.

**Recursos e infraestructura:** El servicio de hematología pediátrica en UMAE pediatría CMNO cuenta con personal capacitado para la identificación de crisis de dolor, la hidroxiurea es proporcionada por el IMSS ya que se encuentra dentro del cuadro básico para el tratamiento de esta patología.

**Experiencia del grupo:** La alumna (MR Alicia Gutiérrez Méndez) es residente de 2° año de la subespecialidad Hematología pediátrica, con experiencia acumulada durante el desarrollo de su Residencia en el diagnóstico y tratamiento de la anemia de células falciformes, los responsables del proyecto (Dra. Janet Margarita Soto Padilla) es subespecialista en Hematología pediátrica, profesor titular de Hematología pediátrica reconocida por la UNAM en UMAE Pediatría CMNO. (Dr. En genética humana Francisco Javier Perea Díaz) Investigador asociado D en el Instituto Mexicano del Seguro Social, con reconocimiento de investigador nacional nivel II por el Sistema Nacional de Investigadores (CONACYT), adscrito al laboratorio de bioquímica II en la división de genética del Centro de Investigación Biomédica de Occidente CMNO IMSS. Con 20 años de experiencia en la línea de investigación de hemoglobinopatías.

Este proyecto será financiado por los responsables del grupo para las encuestas y el IMSS por la aportación del tratamiento Hidroxiurea, el cual se encuentra dentro del cuadro básico para la subespecialidad, promete dimensionar la magnitud del problema causado por crisis de dolor secundarias a crisis vaso oclusivas en pacientes con anemia de células falciformes quienes habitualmente sufren las crisis de dolor en su domicilio.

## CONSENTIMIENTO INFORMADO

**Guadalajara, Jalisco \_\_\_\_ de \_\_\_\_ de 2015.**

Por medio de la presente autorizo que mi hijo(a) \_\_\_\_\_ participe en el proyecto de investigación titulado “Efecto de la mejoría del dolor secundario a crisis vaso-oclusivas y niveles de hemoglobina fetal en paciente con anemia de células falciformes tratados con hidroxiurea, atendidos en HPCMNO del IMSS”, registrado en el Comité Local de Investigación del Hospital de Pediatría Centro Médico de Occidente, Instituto Mexicano del Seguro Social, Guadalajara, Jalisco. El objetivo del estudio será determinar la presencia de dolor secundario a crisis vaso-oclusivas, en pacientes pediátricos con diagnóstico de anemia de células falciformes, para con ello, identificar si existe mejoría del dolor, posterior al tratamiento con hidroxiurea y modificación de niveles de hemoglobina fetal, de su enfermedad. Se me ha explicado que la participación de mi hijo(a) consistirá en realizar un cuestionario para evaluación del dolor y tomar una muestra de sangre para realizar una prueba en el laboratorio de bioquímica II del CIBO para cuantificar Hemoglobina Fetal y Hemoglobina S. Declaro que se me ha informado ampliamente sobre los posibles riesgos, inconvenientes, molestias y beneficios derivados de la participación de mi hijo(a) en el estudio, que son los siguientes: Se toma una muestra de sangre que puede causar dolor, irritación del área o inflamación. El beneficio es evaluar la Hemoglobina fetal y compararla con los datos obtenidos en estudios anteriores para valorar incremento de la misma posterior al tratamiento con hidroxiurea. Se realiza cuestionario para la evaluación del dolor, con escalas multidimensionales y unidimensionales aprobadas, las cuales no tienen ningún riesgo para el paciente, se decide realizar el consentimiento informado para el mejor entendimiento del mismo.

El Investigador Responsable se ha comprometido a darme información oportuna sobre cualquier procedimiento alternativo adecuado que pudiera ser ventajoso para mi tratamiento, así como a responder cualquier pregunta y aclarar cualquier duda que le plantee acerca de los procedimientos que se llevarán a cabo, los riesgos, beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación o con mi tratamiento. Entiendo que conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento, en que lo considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que recibo en el Instituto. El Investigador Responsable me ha dado seguridades de que no se me identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y de que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma confidencial.

También se ha comprometido a proporcionarme la información actualizada que se obtenga durante el estudio, aunque esta pudiera hacerme cambiar de parecer respecto a mi permanencia de mi representado (a) en el mismo.

---

**Nombre y firma de ambos padres o tutores o del representante legal**

---

**Investigador Responsable:** Dra. Janet Margarita Soto Padilla  
Pediatra Hematólogo. Matrícula 11415274 Tel 3316026537

---

Testigo

---

Testigo

**TABLA DE OPERACIONALIZACION DE VARIABLES**

<b>DEFINICION CONCEPTUAL</b>	<b>DEFINICION OPERACIONAL</b>	<b>TIPO DE VARIABLE</b>	<b>ESCALA DE MEDICION</b>	<b>PRUEBA ESTADISTICA A REALIZAR</b>
Hidroxiurea <i>INDEPENDIENTE</i>	Cantidad	Cuantitativa	Intervalo	No paramétricas
Crisis de dolor <i>DEPENDIENTE</i>	Positivo/negativo	Cualitativa Nominal	Nominal	Ji <sup>2</sup> con corrección de Yates
Escalas Unidimensionales <i>DEPENDIENTE</i>	Cantidad	Cualitativa Nominal	Intervalo	Ji <sup>2</sup> con corrección de Yates
Escalas multidimensionales <i>DEPENDIENTE</i>	Positivo /Negativo	Cualitativa Nominal	Nominal	Ji <sup>2</sup> con corrección de Yates
Hemoglobina Fetal <i>DEPENDIENTE</i>	Cantidad	Cuantitativa Discreta	Porcentaje (categórica estableciendo rangos )	Ji <sup>2</sup> con corrección de Yates

## CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Actividades	2014										2015	
	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC	ENE	FEB
Realización del protocolo	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X		
Revisión y autorización por el CLIS											X	
Levantamiento y captura de datos											X	
Procesamiento y análisis de la información											X	
Análisis y presentación de resultados preliminares												X
Redacción del informe de tesis												X
Entrega del documento final												X

## Resultados:

Se incluyeron 11 niños con anemia de células falciformes, al menos con dos meses de tratamiento con hidroxiurea, seis (54,54%) fueron varones y el resto mujeres. El rango de edad fue de 6 a 16 años.

Previo al inicio del tratamiento con hidroxiurea, cuatro pacientes, presentaban dolor muy severo y los 6 restantes dolor severo de acuerdo a la escala unidimensional, en base a la escala multidimensional, 5 pacientes presentaban dolor muy severo, 5 pacientes dolor severo y 1 paciente dolor moderado. El valor promedio del porcentaje de hemoglobina fetal con los métodos Betke y Singer, son de  $9.7\% \pm 6.2$  y  $12.0\% \pm 6.9$  respectivamente.

Posterior al tratamiento con hidroxiurea, el dolor de acuerdo a ambas escalas, tanto unidimensionales y multidimensionales se evaluó como leve en seis de los pacientes y dolor moderado en los 5 restantes. Los valores promedio del porcentaje de hemoglobina fetal con los métodos Betke y Singer, son de  $15.6\% \pm 9.9$  y  $16.7\% \pm 9.8$  respectivamente.

El incremento de hemoglobina fetal estuvo presente en el 90.90% de los pacientes. (Tablas 1, 2 y 3)

**Tabla 1:**

	Intensidad del dolor previa (escala unidimensional)		Intensidad del dolor post(escala unidimensional)		Intensidad del dolor previa (escala multiimensional)		Intensidad del dolor post (escala multidimensional)	
	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia	Porcentaje	Frecuencia	Porcentaje
Dolor Muy Severo	4	36.4	0	0	5	45.5	0	0
Dolor Severo	6	54.5	0	0	5	45.5	0	0
Dolor Moderado	1	9.1	5	45.5	1	9.1	5	45.5
Dolor Leve	0	0	6	54.5	0	0	6	54.5
Total	11	100	11	100	11	100	11	100



**Tabla 2:**

Intensidad del dolor (escala unidimensional) N- sin dolor, L- leve, M- moderado S- Severo, MS- muy severo						
	No. De Pacientes	% Hb fetal Betke previa a hidroxiurea	% Hb fetal Betke post hidroxiurea	No. De pacientes	% de Hb fetal Singer, previa hidroxiurea	% de Hb fetal Singer, post hidroxiurea
Dolor Leve						
Media	6		13.9	6		15.58
Desviación estándar	6		± 5.52	6		± 10.84
Dolor Moderado						
Media	5		18.01	5		18.23
Desviación estándar	5		± 12.69	5		± 10.84
Dolor Moderado						
Media	1	6.76		1	6.5	
Desviación estándar	1	-		1	-	
Dolor Severo						
Media	6	8.24		6	8.1	
Desviación estándar	6	± 5.06		6	± 5.04	
Dolor Muy severo						
Media	4	14.29		4	15.29	
Desviación estándar	4	± 7.34		4	± 7.054	

**Tabla 3:**

Intensidad del dolor (escala multidimensional) N- sin dolor, L- leve, M- moderado S- Severo, MS- muy severo						
	No. De Pacientes	% Hb fetal Betke previa a hidroxiurea	% Hb fetal Betke post hidroxiurea	No. De pacientes	% de Hb fetal Singer, previa hidroxiurea	% de Hb fetal Singer, post hidroxiurea
<b>Dolor Leve</b>						
Media	6		14.06	6		15.99
Desviación estándar	6		± 5.90	6		±7.30
<b>Dolor Moderado</b>						
Media	5		13.50	5		13.55
Desviación estándar	5		± 7.09	5		±8.72
<b>Dolor Moderado</b>						
Media	1	6.76		1	6.5	
Desviación estándar	1	-		1	-	
<b>Dolor Severo</b>						
Media	5	6.95		5	8.15	
Desviación estándar	5	± 3.97		5	± 4.51	
<b>Dolor Muy severo</b>						
Media	5	14.36		5	16.58	
Desviación estándar	5	± 5.69		5	± 6.31	

Se evaluaron los datos de citometría hemática, pruebas de función hepática y electrolitos séricos, previa y post tratamiento, los valores promedio  $\pm$  Desviación estándar son descritos en la tabla 4.

Se observó un incremento significativo en la hemoglobina, posterior al tratamiento con hidroxiurea, la cual es mayor en el sexo masculino.

Con respecto a la evaluación de las enzimas hepáticas únicamente se elevó la TGP sin cambios significativos que sugieran toxicidad por hidroxiurea, TGO y bilirrubinas se mantuvieron dentro de rangos normales, así como los electrolitos séricos, los cuales mostraron variación sin salir del rango normal para la edad de los pacientes.

En la tabla 4, se muestran las características de parámetros evaluados.

**Tabla 4:**

	Niños evaluados	Media	Desviación estándar	P	Intervalo de confianza 95%	
					Valor más bajo encontrado	Valor más alto encontrado
Hb previa	11	7.59	1.54	0.000	6.552	8.630
Hb Post	11	8.52	1.28	0.000	7.664	9.390
Eritrocitos previos	11	2.77	0.73260	0.000	2.2824	3.2667
Eritrocitos post	11	2.9	0.6674	0.000	2.464	3.361
Hcto previo	11	22.89	3.91	0.000	20.26	33.61
Hcto post	11	25.00	4.54	0.000	21.95	28.061
VCM previo	11	84.21	11.35	0.000	76.58	91.84
VCM post	11	87.80	14.06	0.000	78.35	97.24
HCM previo	11	27.82	4.44	0.000	24.84	30.81
HCM post	11	30.89	5.05	0.000	27.49	34.28
TGO previo	11	58.09	17.66	0.000	46.23	69.96
TGO post	11	50.55	18.75	0.000	37.95	63.14
TGP previo	11	35.55	10.87	0.000	28.24	42.85
TGP post	11	41	10.14	0.000	31.01	61.2
BD previa	11	0.465	0.305	0.000	0.260	0.669
BD post	11	0.431	0.194	0.000	0.301	0.5626
BI previa	11	3.228	2.4086	0.001	1.610	4.846
BI post	11	2.691	1.9641	0.001	1.371	4.010
BT previa	11	3.693	2.6036	0.001	1.944	5.442
BT post	11	3.122	2.0570	0.001	1.7408	4.5047
Na previo	8	138.13	2.90	0.000	135.70	140.55
Na post	8	137.06	2.24	0.000	135.187	138.938
Cl previo	8	103.75	4.36	0.000	100.10	107.40
Cl post	8	103.32	4.75	0.000	99.349	107.301
K previo	8	4.80	1.01	0.000	3.954	5.646
K post	8	4.43	0.14	0.000	4.310	4.560
Ca previo	8	20.56	32.099	0.113	9.00	10.01
Ca post	8	20.325	31.3876	0.110	8.5	9.6
Mg previo	8	1.95	0.185	0.000	1.795	2.105
Mg post	8	1.99	0.2832	0.000	1.7582	2.2318
P previo	8	5.113	0.7492	0.000	4.486	5.739
P post	8	5.275	0.6341	0.000	4.745	5.805

La mayoría de los pacientes (63%), al momento del estudio tenían más de 12 meses tratados con hidroxiurea y de acuerdo a eso se evaluó la necesidad de transfusión posterior al mismo, la cual disminuyó de manera considerable. Tabla 5 y 6.

**Tabla 5:**

Tiempo de tratamiento con hidroxiurea (meses)		
	Frecuencia	Porcentaje
Más de 12 meses	7	63.6
De 6 a doce meses	0	0
De 3 a 6 meses	2	18.2
2 meses	2	18.2
Total	11	100

**Tabla 6:**

Número de transfusiones			
Cantidad en meses	frecuencia	Porcentaje	Porcentaje acumulado
0	3	27.3	27.3
1	2	18.2	45.5
24	1	9.1	54.5
3	1	9.1	63.6
30	1	9.1	72.7
60	1	9.1	81.8
9	2	18.2	100
Total	11	100	

## **Discusión:**

La Hidroxiurea es un medicamento utilizado en pacientes con anemia de células falciformes, para mejoría del dolor, mediante el incremento de hemoglobina fetal, otros de los efectos benéficos del uso de hidroxiurea incluyen; el incremento del metabolismo del óxido nítrico, reduciendo a su vez la interacción del eritrocito con el endotelio y la densidad eritroide, lo que disminuye la vaso-oclusión; es una medida terapéutica simple, no invasiva, que requiere una dosis diaria.<sup>8</sup>

## **Medición del dolor**

Mediante escalas unidimensionales y multidimensionales, la intensidad del dolor, se vio disminuida en 10 (90.9%) de los pacientes tratados con hidroxiurea, aunque ninguno refirió ausencia total del mismo, la calidad de vida de los pacientes, se vio incrementada, se observó disminución en la afectación tanto de la actividad física, así como el estado de ánimo y sin alteración del sueño.

En todos los pacientes con anemia de células falciformes se presenta dolor, en los niños evaluados en el presente trabajo, se observó una disminución significativa de la intensidad del dolor, aumento en la actividad física, reducción del ausentismo escolar e incremento en las relaciones interpersonales.

Ante la elevada incidencia de dolor en niños con anemia de células falciformes reportada por otros estudios <sup>15,17,20</sup> y la carencia de un tratamiento específico para la disminución del mismo, surge la necesidad de implementar medidas que mejoren la calidad de vida del paciente con disminución de episodios de dolor, en este caso con hidroxiurea, la cual tiene como función, el incremento de la hemoglobina fetal y a consecuencia, disminución de la hemoglobina S, con disminución de falciformación y destrucción de los eritrocitos.

Por lo anterior, la utilidad de las encuestas basadas en escalas unidimensionales y multidimensionales para la evaluación del dolor podrían ser de mucha utilidad para la detección oportuna de la intensidad del dolor, y permitirnos el ajuste de la dosis del tratamiento con hidroxiurea, ya que es fácil de realizar, no invasiva y rápida para obtener un resultado definitivo en el control de las manifestaciones del paciente.

En nuestro estudio, se observó incremento de la hemoglobina fetal mayor a 3% en el 63.6 % (7/11) de los pacientes, se mantuvo en los mismos niveles en el 27.3% (3/11) pacientes, y en 9.1% (1/11) de los pacientes no presenta incremento de la hemoglobina fetal, a pesar de contar con más de un año de tratamiento con hidroxiurea. Estos datos nos sugieren que el tratamiento con hidroxiurea es de utilidad, para el paciente, sin embargo, hay pacientes en los que no se observará un incremento de hemoglobina fetal por las distintas formas de responder a este tratamiento.

Se realizó un estudio multicéntrico <sup>15</sup> de casos y controles en 21 sitios de Estados Unidos y Canadá con el uso de hidroxiurea en pacientes con anemia falciforme durante el periodo de dos años, con tasas medias de dolor de 2.5 crisis por año en el grupo hidroxiurea y 4.5 crisis por año en el grupo placebo una diferencia del 44 %, comparado con nuestro trabajo, todos los pacientes presentan mejoría del dolor en cuanto a las crisis.

La incidencia de muerte, accidente cerebrovascular y secuestro hepático no fue significativamente diferente en los dos grupos, en nuestro estudio podemos observar además la ausencia de accidente cerebrovascular y daño hepático secundario a pesar de solo contar con el 63.63% de pacientes con más de 12 meses de tratamiento, no se observan alteraciones en las pruebas de función hepática, bilirrubinas o alteraciones gastrointestinales.

Los niveles de hemoglobina, volumen corpuscular media, los niveles de hemoglobina fetal, y la proporción de células F fueron mayores en el grupo de hidroxiurea que en el grupo placebo en el momento de finalizar el estudio. Una diferencia en la frecuencia de las crisis de dolor entre los grupos hidroxiurea y placebo comenzó a surgir dentro de unos dos meses del inicio del tratamiento y fue claramente evidente a los cuatro meses,<sup>15</sup> al igual que en nuestro estudio, se observó incremento de hemoglobina fetal posterior a dos meses de tratamiento, sin complicaciones.

Otro estudio realizado en St Jude <sup>33</sup> donde se les dio seguimiento a pacientes con anemia de células falciformes sin alteraciones a largo plazo, lo que indica que es seguro y sin grandes complicaciones, al igual que en nuestro estudio en el cual no se evidencia ninguna alteración secundaria.

En población venezolana se realizó otro estudio <sup>20</sup> donde se analizaron pacientes con anemia de células falciformes durante siete meses, las crisis dolorosas disminuyeron a menos de 3 en el 87%, sin complicaciones de síndrome torácico agudo o secuestro esplénico, así como disminución en ingresos hospitalarios y requerimiento transfusional, sin cambios en parámetros hematológicos ni reacciones adversas, este estudio evalúa pacientes de características más similares a nuestra población pudiendo observar que ambos tienen un comportamiento parecido, en nuestro estudio se observó también incremento de hemoglobina fetal, disminución del dolor, transfusión y sin evidencia de reacciones adversas.

La hidroxiurea incrementa la concentración de hemoglobina fetal en la mayoría de los individuos con anemia de células falciformes, pero algunos pacientes a pesar de seguir todas las indicaciones médicas no responden o no tienen un incremento de hemoglobina fetal significativo, en estos pacientes intervienen otros factores, principalmente los genéticos, la presencia de marcadores genéticos asociados a mayor gravedad de la enfermedad son los haplotipos Benin y Bantú<sup>31</sup>, los individuos con

dichos marcadores presentan una reducción en los niveles de Hb fetal en comparación con los que tienen los haplotipos Senegal y Arabe-Hindu con incremento de hasta 25% de Hb fetal <sup>31,32</sup>

En la drepanocitosis, la efectividad de los haplotipos con valor pronostico y niveles de hemoglobina fetal, tienen relación con el tratamiento con hidroxiurea, debido a que existen factores tanto directos como indirectos, en la regulación de los genes globínicos fetales, por ejemplo existe un polimorfismo llamado -158 XmnI C→T en el gen HBG1, el cual favorece el incremento de globinas gamma en estadios de estrés eritroide que se manifiesta con incremento de la Hb F. Además, se conocen cinco haplotipos (Árabe hindú, Bantú, Senegal, Benín y Camerún), que denominan a posibles orígenes de la mutación de la HbS, de ellos se han asociados a incremento en los niveles de Hb fetal los haplotipos Árabe Hindú y el Senegal y la presencia del polimorfismo -158 XmnI C→T (cita).

Como ejemplo de factores indirectos encontramos la presencia de dos polimorfismos en los genes BCL11A y HBS1L-MYB los cuales se han asociado con incremento de hemoglobina fetal e incremento de células F, el primer gen produce un factor transcripciones específico de células eritroides

La concentración de HbF en la sangre se determina por las interacciones entre factores de transcripción que modulan la eritropoyesis, los genes globínicos y marcadores genéticos ligados a la Familia de los genes beta-globinas denominados haplotipo.

Consideramos que la cuantificación de hemoglobina fetal debería realizarse en todos los pacientes con anemia de células falciformes que acuden a nuestro hospital, como apoyo del seguimiento y valoración del tratamiento en relación al incremento de hemoglobina fetal durante el mismo.

De acuerdo a la evaluación de pruebas de función hepática no se observó toxicidad para TGO; la TGP si presenta incremento pero no significativo para toxicidad hepática. Los datos de BT, BD y BI disminuyeron, por lo que el medicamento no causó repercusiones, en cuanto a la función renal, hubo variabilidad en las cifras de electrolitos sin salir del rango normal para la edad de nuestros pacientes.

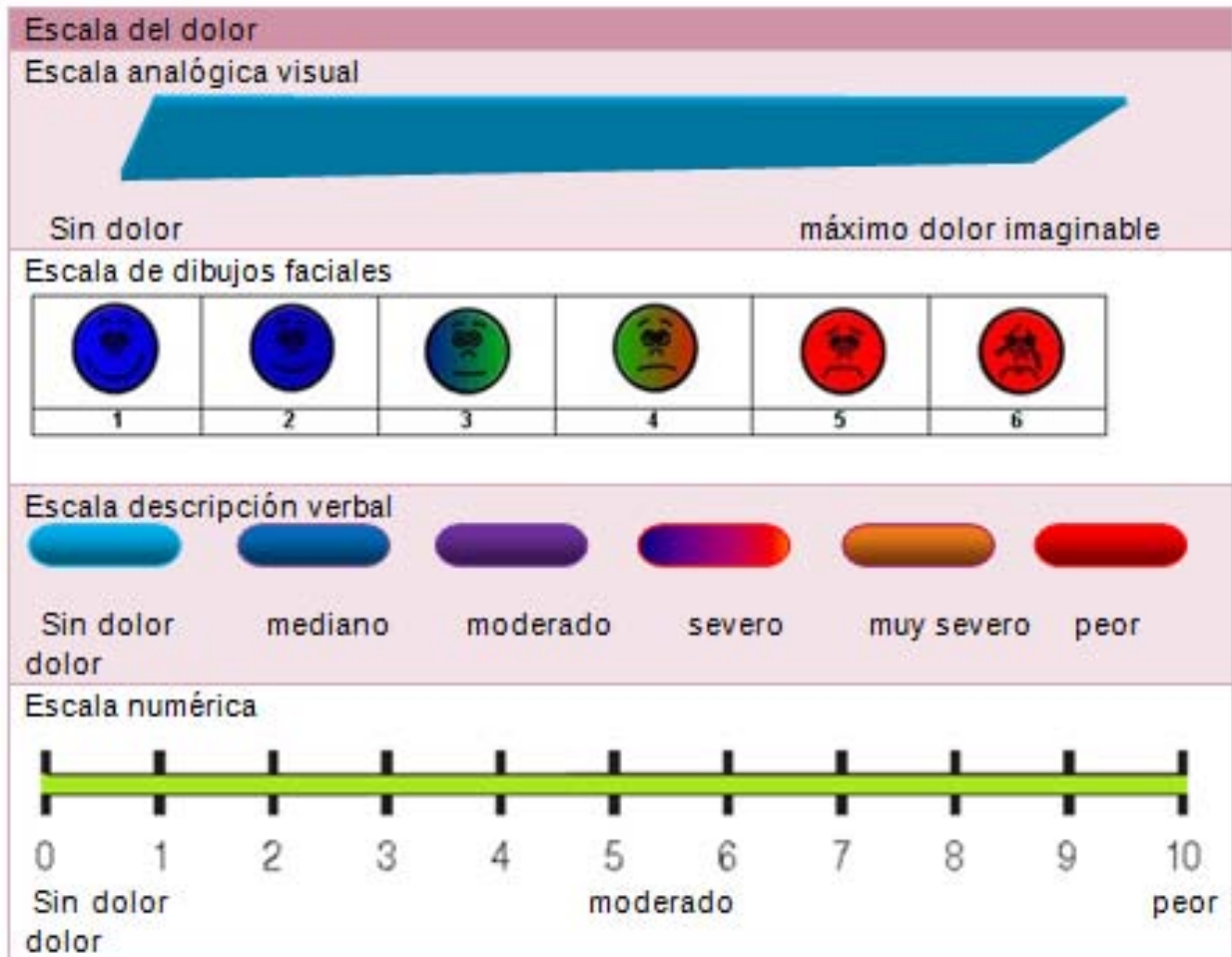


## **Conclusiones:**

- La detección temprana del dolor en pacientes con anemia de células falciformes nos ayuda a disminuir complicaciones propias de la enfermedad con incremento de Hb fetal.
- La etiología de la anemia de células falciformes es hereditaria, por lo que no podemos evitarla pero sí podemos mejorar la calidad de vida con medidas externas, de acuerdo al estudio realizado, la calidad de vida de nuestros pacientes mejora notablemente a pesar de no haber un tratamiento específico para el dolor.
- El incremento de la hemoglobina fetal puede estar asociada además a factores genéticos, lo que puede afectar el incremento de la hemoglobina fetal a pesar de tener un tratamiento oportuno y adecuado.
- Con el tratamiento con hidroxiurea, además de la disminución del dolor, podemos mejorar la calidad de vida de los pacientes con anemia de células falciformes, disminuyendo a su vez los requerimientos transfusionales, evitando así la sobrecarga de hierro y las infecciones virales, priones, etc.

## Algoritmos y Anexos:

### Anexo 1.- Escalas de valoración del dolor (unidimensionales).



Anexo 2:

**B1 Cuestionario Breve para la Evaluación del Dolor (Edición Corta)**

Estudio N° \_\_\_\_\_

Hospital N° \_\_\_\_\_

No Escriba Sobre Esta Línea

Fecha: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

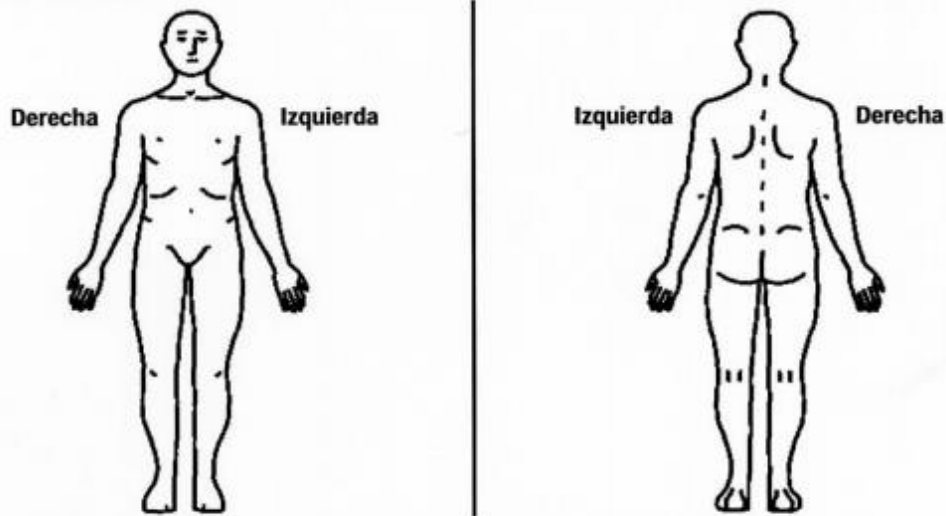
Hora: \_\_\_\_\_

Apellido: \_\_\_\_\_ Nombre: \_\_\_\_\_

1. Todos hemos tenido dolor alguna vez en nuestra vida (por ejemplo, dolor de cabeza, contusiones, dolores de dientes). ¿En la actualidad, ha sentido un dolor distinto a estos dolores comunes?

1. Sí      2. No

2. Indique en el dibujo, con un lápiz, donde siente el dolor. Indique con una "X" la parte del cuerpo en la cual el dolor es más grave.



3. Clasifique su dolor haciendo un círculo alrededor del número que mejor describe la intensidad **máxima** de dolor sentido en las últimas 24 horas.

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Ningún Dolor										El Peor Dolor Imaginable

4. Clasifique su dolor haciendo un círculo alrededor del número que mejor describe la intensidad **mínima** de dolor sentido en las últimas 24 horas.

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Ningún Dolor										El Peor Dolor Imaginable

5. Clasifique su dolor haciendo un círculo alrededor del número que mejor describe la intensidad **media** de dolor sentido en las últimas 24 horas.

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Ningún Dolor										El Peor Dolor Imaginable

6. Clasifique su dolor haciendo un círculo alrededor del número que mejor describe la intensidad de su dolor **actual**.

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Ningún Dolor										El Peor Dolor Imaginable

7. ¿Qué tratamiento o medicamento recibe para su dolor? \_\_\_\_\_

8. ¿En las últimas 24 horas, cuánto **alivio** ha sentido con el tratamiento o con el medicamento? Indique con un círculo el porcentaje que mejor se adapta a su alivio.

0%	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%	100%
Ningún Alivio										Alivio Total

9. Haga un círculo alrededor del número que mejor describe la manera en que el **dolor ha interferido**, durante las últimas 24 horas, con su:

**A. Actividad en general**

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
No Interfiere										Interfiere por Completo

**B. Estado de ánimo**

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
No Interfiere										Interfiere por Completo

**C. Capacidad de caminar**

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
No Interfiere										Interfiere por Completo

**D. Trabajo normal (ya sea en casa o afuera)**

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
No Interfiere										Interfiere por Completo

**E. Relaciones con otras personas**

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
No Interfiere										Interfiere por Completo

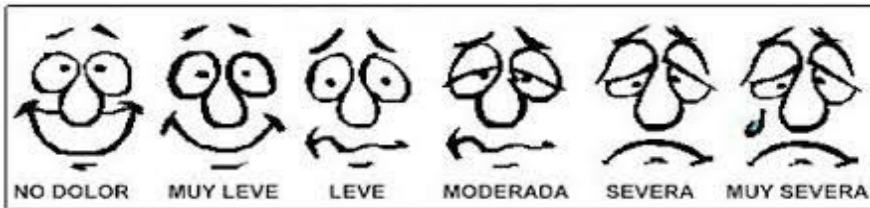
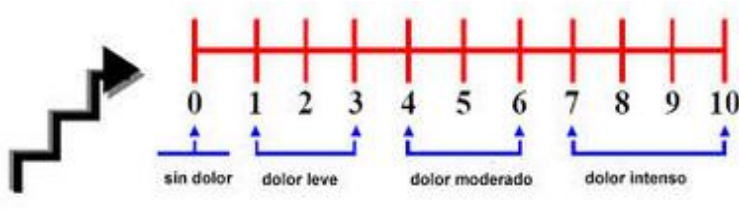
**F. Sueño**

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
No Interfiere										Interfiere por Completo

**G. Capacidad de diversión**

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
No Interfiere										Interfiere por Completo

- ¿cuál es la intensidad del dolor? Marque con un círculo el número o la cara que mejor corresponda a su dolor.



**Anexo 3:**

**CEDULA PARA LA RECOLECCION DE DATOS**

**NOMBRE DEL PACIENTE** \_\_\_\_\_ **AFILIACION:** \_\_\_\_\_

FECHA DE DIAGNOSTICO:						
SEXO	MASCULINO			FEMENINO		
EDAD						
DIAGNOSTICO						
UTILIZACION DE MEDICAMENTO PREVIA A INICIO DE HIDROXIUEA	SI	NO	TIEMPO DE UTILIZACION DE MEDICAMENTO			
MEDICAMENTO UTILIZADO						
<b>PADRES</b>						
EDAD	18-25	26-35	36-45	>45		
ESTADO CIVIL		SOLTEROS	UNION LIBRE	SEPARADOS /DIVORCIADOS		VIUDEZ
ESCOLARIDAD	ANALFABETA	PRIMARIA	SEC	PREPARATORIA	LICENCIATURA	POST GRADO
<b>PACIENTE</b>						
EDAD						
INICIO DE TRATAMIENTO	SI			NO		

CON HIDROXIUREA.				
TRATAMIENTO CON HIDROXIUREA	2 MESES	2-6 MESES	6-12 MESES	> 1 AÑO
UTILIZA EL TRATAMIENTO CON HIDROXIUREA DIARIAMENTE	SI	NO		
		CUANTOS DIAS A LA SEMANA TOMA LA HIDROXIUREA	<3DIAS	>3 DIAS
PRESENCIA DE DOLOR	EN EL ULTIMO MES	EN EL ULTIMO AÑO		
REQUIRIO HOSPITALIZACION	SI	NO	FRECUENCIA DEL DOLOR	ULTIMA TRANSFUSION
Hemoglobina fetal al diagnóstico:				
Hemoglobina fetal actual:				
Últimos exámenes de laboratorio:				

#### Anexo 4:

- **Cuantificación de HbF mediante el método de desnaturalización alcalina**

Existen la actualidad varios métodos para la determinación de la Hb F, la mayoría de ellos se basan en la principal característica de dicha hemoglobina: la resistencia a la desnaturalización alcalina debido a su afinidad por el oxígeno. La prueba de desnaturalización alcalina es precisa, consiste en la desnaturalización de la proteína por la adición de hidróxido de sodio, posteriormente la reacción se detiene agregando sulfato de amonio saturado.

*Procedimiento:*

Se agregan en un tubo 1.6 mL de solución NaOH 1/12N, posteriormente se le adicionan 100  $\mu$ L del hemolizado y se comienza a tomar el tiempo con un cronómetro, se agita durante 20 seg y 40 seg después se le agregan 3.4 mL de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, el tubo se deja en reposo durante 30 min y posteriormente se filtra utilizando papel filtro Whatman, el filtrado contiene la Hb F, para la obtención de la Hb total se agregan en un tubo 5.0 mL de H<sub>2</sub>O destilada y 20  $\mu$ L de hemolizado, los productos se leen al espectrofotómetro a 540 nm.

*Cálculos:*

$$\%HbFetal = \frac{Do_{HbF}}{Do_{HbT}} (203 \times 100)$$

Los niveles normales de Hb F deben ser hasta 2%.



## Anexo 5:

- **Cuantificación de HbA<sub>2</sub> por cromatografía de intercambio iónico en DEAE celulosa. Desarrollador Tris KCN.** (Efremov y col., 1974))

### A. Preparación de reactivos

#### 1. Preparar las soluciones Stock.

##### a) Solución Stock 1 (TRIS 1 M).

Trizma base.....12. 1 g

H<sub>2</sub>O destilada .....c.b.p 100 ml

##### b) Solución Stock 2

KCN ..... 1 g

H<sub>2</sub>O destilada ..... c.b.p 250 ml

#### 2. Preparar las siguientes soluciones buffer de trabajo

a) Tris KCN pH 8.6: medir 7 ml de Stock1 y 25 ml de Stock 2. En un vaso de precipitado agregar de 600 a 700 ml de agua desmineralizada. Ajustar a pH 8.6 con HCl 3.0 M. Aforar a 1 000 ml con agua desmineralizada

b) Tris KCN pH 7.6: medir 7 ml de Stock 1 y 25 ml de Stock 2. En un vaso de precipitado agregar de 600 a 700 ml de agua desmineralizada. Ajustar a pH 7.4 con HCl 3.0 M. Aforar a 1 000 ml con agua desmineralizada.

c) Tris KCN pH 7.0: medir 50 ml de Stock 1 y 25 ml de Stock 2. En un vaso de precipitado agregar de 600 a 700 ml de agua desmineralizada. Ajustar a pH 7.0 con HCl 6.0 M. aforar a 1 000 ml con agua desmineralizada.

#### 3. Para preparar la resina DEAE celulosa Microgranular prehidratada (Sigma D-3764) o Whatman DE 52.

Pesar 25 g de resina, pasarla a un matraz Erlenmeyer y agregarle 200 ml de buffer Tris KCN pH 8.6

Agitar por 2 horas y dejar decantar por unos 10 minutos, remover el Buffer y las partículas pequeñas.

Agregar nuevamente 200 ml de buffer Tris KCN pH 8.6 agitar por 2 horas, dejar decantar y remover el Buffer. Repetir los lavados cuantas veces sea necesario hasta que la resina tenga el pH 8.6 en ese momento la resina está equilibrada

Nota: Para verificar el buen funcionamiento de la resina, realice una prueba con 3 muestras de preferencia una con HbA<sub>2</sub> alta, una normal y una con HbS.

### B. Preparación de la columna

Agregue unos 2 ml de la resina equilibrada a una pipeta Pasteur y dejar sedimentar la resina , adicione 2 ml de buffer Tris KCN pH 8.6. Dejar que fluya el buffer por la columna para que se empaque y ajuste la altura de las resinas unos 4 cm de alto. Colocar una malla de algodón en la punta de la pipeta Pasteur para atrapar la resina la malla, tiene que ser lo más delgada posible para permitir la elución de la HbA<sub>2</sub>. De no ser así la resina se compacta en la punta de la pipeta

impidiendo la salida de los buffers utilizados para eluir las hemoglobinas de interés.

Agregue nuevamente 1 ml de buffer Tris KCN pH 8.6 y dejar que fluya el buffer. Cubra la columna con parafilm hasta que la utilice.

Precaución Que la columna nunca se quede sin buffer por completo, para evitar que se reseque la resina.

#### 1. Preparación de hemolizados

En un tubo de ensayo agregue 150 µl de buffer Tris KCN pH 8.0 y 50 µl del hemolizado.

#### 2. Desarrollo de la cromatografía para cuantificar HbA<sub>2</sub>

Dejar de fluir el buffer de la columna hasta que el menisco del buffer llegue a la resina.

Agregue 80 µl del hemolizado diluido en la parte superior de la resina, dejar que fluya el buffer hasta que se vacíe, y agregue 300 µl del buffer Tris KCN pH 8.6 y dejar que fluya, permitiendo que las gotas del hemolizado se hayan internado en la resina (los residuos de las paredes de la pipeta Pasteur son eluidas con el mismo Buffer). Nota: si la banda de Hb es menor a 2 mm agregue otros 2 µl de muestra.

Agregue 5 ml del buffer KCN pH 7.6 y dejar fluir el buffer hasta que empiece a salir la banda de la HbA<sub>2</sub>. Cuando la banda este a la mitad de la columna empieza a colectar el Buffer que sale de la columna en un tubo de Falcón de 15 ml, hasta que salga toda la HbA<sub>2</sub>. Nota: que el volumen del buffer donde se colecta la HbA<sub>2</sub> de preferencia no sobrepase los 5 ml.

Cambie la columna a un matraz aforado de 25 ml y agregue 5 ml de buffer de Tris KCN pH 7.0 y dejar fluir el buffer por la columna hasta que salga por completo la Hb remanente. Si queda HbA por salir agregue 4 ml más de buffer Tris KCN pH 7.0. Afore con agua destilada a 25 ml.

Cuantificación en el espectrofotómetro

Ajuste el espectrofotómetro a 415 nm y realice la lectura de densidad óptica (DO) de ambas fracciones

Realice los cálculos de la siguiente manera:

Cálculos

$$\frac{DO \text{ HbA}_2 \times 100}{DO \text{ HbA}_2 + \left[ \frac{DO \text{ HbA} \times F}{\text{Hb Total} \times F} \right]} = \% \text{ HbA}_2$$

F= Es un factor de dilución que se modifica según el volumen final de la HbA<sub>2</sub>. En el ejemplo de la formula es 25 ml de la HbA entre 5 ml de la HbA<sub>2</sub>. Para calcular el factor considere el volumen final de la HbA entre el volumen final de la HbA<sub>2</sub>.

### 3. Desarrollo de la cromatografía para muestras con HbS

Prepare la columna para que la resina tenga una altura de 5 cm.

Prepare una mezcla de 1 partes de Tris KCN pH 8.6 y dos parte de Tris KCN pH 7.6

Dejar fluir el buffer de la columna hasta que el menisco del buffer llegue a la resina.

Agregue 80 µl del hemolizado diluido en la parte superior de la resina, dejar que fluya el buffer hasta que se vacíe, y agregue 300 µl del buffer Tris KCN pH 8.6 y dejar que fluya. Nota: Si la banda de hemoglobina es menor a 2 mm agregue otros 20 µl de muestra.

Agregue 5 ml de la mezcla de buffers (1:2 pH 8.6 y 2 pH 7.6) y dejar fluir el buffer hasta que empiece a salir la banda de HbA<sub>2</sub>. Cuando la banda este a la mitad de la columna empieza a recolectar el buffer que sale de la columna en un tubo de Falcón de 15 ml hasta que salga toda la HbA<sub>2</sub>. Nota: que el volumen del buffer donde se captura la HbA<sub>2</sub> no sobrepase los 5 ml.

Cambie la columna a un matraz de 25 ml y siga agregando la mezcla de buffers hasta que salga la HbS y afore a 25 ml con agua destilada.

Cambie la columna a un matraz de 25 ml y agregue 5 ml de buffer Tris KCN pH 7.0 y dejar drenar la columna hasta que salga por completo la Hb remanente. Afore con agua destilada a 25 ml.

Cuantificación en el espectrofotómetro

Ajuste el espectrofotómetro a 415 nm y realice la lectura de densidad (DO) de las 3 fracciones.

Realice los cálculos de la siguiente manera:

Cálculos

$$\frac{\text{DO HbA}_2 \times 100}{\text{DO HbA}_2 + (\text{DO HbS} \times 25/5) + (\text{DO HbA} \times \text{vol A/ A}_2)} = \% \text{ HbA}_2$$

$$\frac{\text{DO HbS} \times 100}{\text{DO HbS} + (\text{DO HbA}_2 \times 5/25) + \text{DO HbA}} = \% \text{ HbS}$$

$$\frac{\text{DO HbA} \times 100}{\text{DO HbS} + (\text{DO HbA}_2 \times 5/25) + \text{DO HbA}} = \% \text{ HbA}$$

## Bibliografía:

1. Graham R, Serjeant. The emerging understanding of sickle cell disease. *Br J Haematol* 2001; 112 (1): 3-18.
2. Alexy T, Sangkatumvongb S, Connesd P, Paisa E, Tripetted J, Barthelemyf J, et al. Sickle cell disease: Selected aspects of pathophysiology. *Clin Hemorheol Microcirc*. 2010; 44(3): 155-66.
3. Chinawa J, Emodi I, Ikefuna A, Ocheni S, Uwaezuoke S. Steady state, Gender comparison of haemoglobin concentration and vital signs of children with Sickle Cell anaemia in Crises and Steady State at attending UNTH Ituku\_ Ozalla Enugu, Nigeria. *Curr Pediatr Res* 2012; 16 (2): 137-141.
4. Rusanova Iryna, Acuña-Castroviejo D. Sickle Cell Disease. A New Visión for an Old Problem. Vol1. 1º Ed. España: Nova Science Pulishers, Inc. 2013.
5. Beutler E, Kipps T, Collier B, Seligsohn U, Marshall A, Lichtman, editors. *Williams Hematología*. Vol 1. 5º Ed. España: Marban, S.L; 2005.
6. Chistine Vermeylen. Sickle cell Anaemia: Current Therapies. *Transfus Apher Sci*. 2013; 49(2): 151-154.
7. Pallis FR, Conran N, Fertrin KY, Olalla ST, Costa FF, Franco CF. Hydroxycarbamide reduces eosinophil adhesion and degranulation in sickle cell anaemia patients. *Br J Haematol*. 2014; 164(2): 286-295.
8. Akinsheye I, Alsultan A, Solovieff N, Ngo D, Baldwin C, Sebastiani P, et al. Fetal hemoglobin in sickle cell anemia. *Blood*. 2011; 118(1): 19-27.
9. Simeon Pollack. Treating Sickle cell anaemia with hydroxycarbamide. *Br J Haematol*. 2014;164(2): 296-297.
10. Cela E, Cervera A, Rives S, González A, Díaz de Heredia C, Salinas J, et al. Guía de práctica clínica sobre enfermedad de células falciformes en pediatría. *Sociedad Española de Hematología y Oncología Pediátricas*. 2010: 1-95.
11. Dampier C, Beth E, Brodecki D, Coleman C, Aertker L, Andrel J. Pain Characteristics and Age-Related Pain Trajectories in Infants and Young Children With Sickle Cell Disease; *Pediatr Blood Cancer*. 2014; 61(2):291-296.
12. Anele UA, Kyle Mack A, Resar LM, Burnett AL. Hydroxyurea therapy for priapism prevention and erectile function recovery in sickle cell disease: a case report and review of the literature. *Int Urol Nephrol*. 2014; 46(9): 1733-6.
13. Brunton L, Lazo J, Parker K. Goodman y Gilman, *Las bases farmacológicas de la terapéutica*, Vol 1. 11ª ed. México. McGraw-Hill; 2007.
14. Creary S, Glawdin M, Byrne M, Hildesheim M, Krishnamurti L. A Pilot Study of Electronic Directly Observed Therapy to Improve Hydroxyurea Adherence in Pediatric Patients With Sickle Cell Disease. *Pediatr Blood Cancer*. 2014; 61: 1068-1073.

15. Charache S, Terrin M, Moore R, Dover J, Barton F, Eckert S, et al. Effect of Hydroxyurea on the frequency of painful crises in Sickle Cell anaemia, *N Engl J Med.* 1995; 332(20): 1317-1322.
16. Madden AN, Jones GL, Kalpatthi R, Woods G. Practice Patterns of stroke Screening and Hydroxyurea Use in Children with Sickle Cell Disease: A Survey of Health Care Providers. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2014; 36(6): e382-6.
17. Patel S, Purohit P, Ranged S, Snehadhini D, Satyabrata M, Sulia S, et al. The Effect of Hidroxyurea on Compound Heterozygotes for sickle Cell- Hemoglobin D- Punjab- A Single Centre Experience in Eastern India. *Pediatr Blood Cancer.* 2014; 61(8):1341-6.
18. Wang W, Oyeku S, Luo Z, Boulet S, Miller S, Casella J, Fish B, Thompson B, Grosse S. Hydroxyurea Is Associated With Lower Costs of Care of Young Children With Sickle Cell Anaemia. *Pediatrics.* 2013; 132(4):677- 683.
19. Joseph D, Tobias. Acute Pain Management in Infants and Children—Part 1: Pain Pathways, Pain Assessment, and Outpatient Pain Management, *Pediatr Ann.* 2014; 43(7):e163–e168.
20. González L, Sánchez M, Insausti C, Tratamiento con hidroxiurea en niños con drepanocitosis. *Rev Hematol Mex* 2012;13(4):165-17
21. Nottage KA, Ware RE, Invierno B, Smeltzer M, Wang WC, Hankins JS, Dertinger SD, Shulkin B, Aygun B. Predictors of splenic function preservation in children with sickle cell anemia treated with hydroxyurea. *Eur J Haematol.* 2014; (Epub ahead of print):1600-9.
22. Backele E, Thornbug CD, Brandow AM, Sharma M, Smaldone AM, Jin Z, et al. Do Difficulties in Swallowing Medication Impede the use of Hidroxyurea in children? *Pediatr Blood Cancer.* 2014; 61(9):1536-9.
23. Gancedo C, Malmierca F, Hernández C, Reynoso Barbero F, Curso de Formación Continuada en Dolor en Pediatría. Vol1. España, SEPEAP; 2008.
24. N. González de Mejía. Analgesia Multimodal Postoperatoria. *Rev. Soc. Esp. Dolor*, 2005; 12 (2):112-118
25. Pillai Riddell RR, Stevens BJ, Mc Keever P, et al. Chronic pain in hospitalized infants: health professionals perspectives. *J Pain.* 2009; 10(12): 1217-25.
26. Salas A, Gutiérrez A, Aldecoa J, Bilbao V, Santos J, Manual de analgesia y sedación en urgencias de pediatría. Vol 1. 1º ed. Madrid: Ergon; 2009.
27. López Castilla, J.D; Soult Rubio, J.A.; Analgesia y sedación en Pediatría. *Pediatr Integral*, 2006; 4:267-276.
28. Quiles M, Hofstadt J, Lynch Q, Bialy L, Kellner JD, et al. Instrumentos de evaluación Del dolor en pacientes pediátricos, una revisión (2ª parte). *Rev. Soc. Esp. Dolor.* 2004; 11:360-369.
29. Valdivielso-Serna, A. y grupo de trabajo de analgesia y sedación de la SEMICY. Analgesia, sedación y relajación en el niño con ventilación mecánica. *Med Intensiva.* 2008; 32(1):115-24.

30. Boyle G, Fernández E, Ortet G. The Mc Gill Pain Questionnaire – MPQ: Linguistic and Statistical Consideration, Revista de Psicología de la Universidad de Chile. 2003;12(1): 112-119
31. Peñaloza R, Buentello L, Hernández A, et al. Frecuencia de la hemoglobina S en cinco poblaciones mexicanas y su importancia en la salud pública, Salud Pública. 2008; 50(4): 325-329.
32. Danilo Humberto, Belini E, De Souza C, Et al, Genetic and biochemical markers of hydroxyureatherapeutic response in sickle cell anemia, Medical Genetics 2013, 14:108: 1-9.
33. Hankins, J, Aygun B, Nottage K, et al. From infancy to adolescence: fifteen years of continuous treatment with hydroxyurea in sickle cell anemia. 2014: 93(28):1-5.