

MICROESFEROCITOSIS

PERFIL ERITROIDE Y SU RELACION CON DISTINTAS PRUEBAS DE LABORATORIO

MONICA T. F. AIXALA, CECILIA N. SARANDRIA

Instituto de Investigaciones Hematológicas, Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires

Resumen La esferocitosis hereditaria (EH) es una anemia hemolítica congénita con microesferocitos en sangre periférica y Coombs negativa. Hay heterogeneidad en la clínica, herencia y defectos moleculares (alteración de proteínas de la membrana), pero la EH típica es autosómica dominante, con anemia, ictericia y esplenomegalia. El objetivo de este estudio fue presentar nuestra experiencia y establecer relación entre parámetros hematológicos y bioquímicos, y pruebas de fragilidad osmótica y autohemólisis tradicionalmente diagnósticas. En nuestro medio, la EH ocupa el segundo lugar dentro de las anemias hemolíticas hereditarias, después de la β talasemia menor. El diagnóstico lo basamos en la microesferocitosis, el análisis de RGO y la autohemólisis. Se estudiaron 47 pacientes (45 de origen latino y 2, sajón). Doce pacientes no tenían antecedentes familiares. Valores promedios: hematíes ($\times 10^{12}/L$) / hemoglobina (g/dL): niños (22): 3.84/10.5; adultos (25): mujeres (13): 3.54/10.59; hombres (12): 4.65/13.15. La autohemólisis (promedio %) estuvo muy aumentada (15.54) y corrigió con el agregado de glucosa (4.07). La fragilidad corpuscular media (promedio g/dL) estuvo incrementada tanto en sangre fresca (0.48) e incubada (0.65). Haptoglobina ausente se encontró en 76.5% de los niños y 26.7% de los adultos. Reticulocitos, bilirrubina indirecta y LDH estuvieron aumentadas (medias $336.35 \times 10^9/L$, 36.25 mmol/L, 236.48 UI/L, respectivamente). Microcitosis, esferocitosis, policromatofilia, acantocitosis, punteado basófilo, "células pinzadas" fueron observados en 43, 41, 41, 12, 11, 1 pacientes respectivamente. Las alteraciones morfológicas estuvieron más marcadas en los niños. Los resultados del laboratorio podrían ser consecuencia de la microcitosis más que de la esferocitosis.

Palabras clave: esferocitosis, hemólisis, fragilidad osmótica, herencia

Abstract *Microspherocytosis. Relationship between erythroid profile and different laboratory tests.*

Hereditary spherocytosis (HS) is a congenital and hemolytic anemia characterized by the presence of microspherocytes on the peripheral blood film and negative Coombs test. Although HS is a heterogeneous syndrome in terms of clinical severity, inherent and underlying molecular defects (deficiency of membrane skeleton proteins), typical HS has a dominant inheritance pattern and presents anemia, jaundice and splenomegaly. The purpose of this study was to present our experience and to establish the relationship between hematological and biochemical parameters and osmotic fragility and autohemolysis, all of them considered as traditionally available tests. In our environment, HS is the second most common inherited anemia after β thalassemia trait. The diagnosis was based on osmotic fragility measurements, autohemolysis test and microspherocytes in 47 patients (45 of latin, 2 of saxon origin); 12 patients had a negative family history. Mean values: RBC ($\times 10^{12}/L$) and Hb (g/dL): children (22): 3.84/10.5; adults (25): female (13): 3.54/10.59; masculine (12): 4.65/13.15. Autohemolysis (average %) was very much increased (15.54) and it was corrected by the addition of glucose (4.07). Median osmotic fragility (average g/dL) was increased in both fresh (0.48) and incubated blood (0.65). 76.5% children and 26.7% adults had absence of haptoglobin. Reticulocytes, indirect bilirubin and LDH were increased (average values $336.35 \times 10^9/L$, 36.25 mmol/L and 236.48 UI/L, respectively). Microcytosis, spherocytosis, polychromatophyllia, acanthocytosis, basophilic stippling, pincer cells were observed in 43, 41, 41, 12, 11, 1 patients respectively. Morphologic alterations were more marked in children. The laboratory findings seemed more a consequence of microcytosis than of spherocytosis.

Key words: spherocytosis, hemolysis, osmotic fragility, inheritance

La esferocitosis hereditaria (EH) es una anemia hemolítica heterogénea en cuanto a su presentación clí-

nica, bases moleculares, herencia y morfología eritrocitaria¹. A la enfermedad de Minkowski-Chauffard, como también se la conoce, se la prefiere llamar microesferocitosis congénita por el número de casos en donde no está confirmada la patología en los padres. Es una anemia hemolítica crónica con prevalencia en la población del norte de Europa en 1 por cada 5000 habitantes. Este número puede no ser exacto ya que hay

Recibido: 14-III-2001

Aceptado: 20-VI-2001

Dirección postal: Bioq. Mónica Aixalá, Instituto de Investigaciones Hematológicas, Academia Nacional de Medicina, Pacheco de Melo 308, 1425 Buenos Aires, Argentina

FAX: (54-11) 4805-0712 e-mail: maixala@hematologia.anm.edu.ar

portadores asintomáticos sin diagnóstico o bien personas sanas con aumento de la fragilidad osmótica eritrocitaria^{2,3}.

La EH es el más común defecto de la membrana eritrocitaria. Es una anemia hemolítica congénita y crónica, con ictericia y esplenomegalia, causada por alteración de proteínas de la membrana eritrocitaria, que presenta microesferocitos en sangre periférica y un incremento en la fragilidad globular osmótica, con prueba de Coombs negativa.

El esqueleto de la membrana eritrocitaria, el cual recubre su cara interna, contiene cuatro proteínas mayores (espectrina, actina, proteína 4-1, ankirina) y otras que colaboran con las interacciones entre ellas (dematina, tropomodulina, tropomiosina, palidina). La banda 3, proteína integral, también es fundamental para lograr las interacciones verticales y mantener la estabilidad de la membrana. Este esqueleto es el responsable del mantenimiento de la forma, estabilidad y deformabilidad del eritrocito^{4,5}. Cambios cuantitativos o cualitativos de muchas de estas proteínas pueden alterar la integridad y el normal funcionamiento eritrocito, llevándolo a lisis.

Distintos autores han publicado los datos de laboratorio de los pacientes con esferocitosis hereditaria. Consideramos de interés presentar nuestra experiencia y relacionar los parámetros hematológicos y bioquímicos con las pruebas consideradas tradicionalmente diagnósticas.

Material y métodos

Se estudiaron 47 pacientes en edades comprendidas entre 1 a 76 años: 22 niños (≤ 15 años) y 25 adultos (13 mujeres y 12 hombres), quienes ingresaron al Instituto entre noviembre de 1983 y junio de 2000. Dos de los pacientes era de origen sajón y el resto, de origen latino. El criterio de inclusión fue la presencia de esferocitos y/o microcitos no hipocrómicos en frotis de sangre periférica, un test de resistencia globular alterado y una prueba de Coombs negativa.

Evaluamos a los pacientes con presunto diagnóstico de esferocitosis hereditaria de acuerdo al siguiente protocolo.

Pruebas generales: hemograma (contador hematológico Coulter ZF y Cell DYN 1700), reticulocitos⁶, hierro (PTBS), bilirrubina indirecta (Jendrassik-Cleghorn), láctico deshidrogenasa (LDH) (cinético), hemoglobina libre (HbL)⁶, haptoglobina (Hp) (Inmunodifusión radial).

Pruebas diagnósticas: resistencia globular osmótica (RGO) basal y postincubación⁶, autohemólisis espontánea y con glucosa⁶, estudios familiares.

Prueba diferencial: Coombs directa.

Pruebas opcionales: test de lisis por glicerol acidificado, hemopexina, estudio de la hemoglobina, prueba de HAM, test de Brewer. Este último grupo de pruebas las aplicamos en determinados casos.

Se evaluaron también grupos controles normales de acuerdo a la edad y el sexo: 23 niños, 20 mujeres adultas y 20 hombres adultos.

Los datos estadísticos se analizaron por el test de Student.

Resultados

La EH ocupa el segundo lugar dentro de las anemias hemolíticas hereditarias que hemos diagnosticado (Tabla 1). En 12 (26%) de nuestros pacientes no pudimos comprobar antecedentes familiares.

Los resultados de las pruebas hematológicas, bioquímicas y diagnósticas se encuentran en las Tablas 2 a 5. Los leucocitos y las plaquetas fueron normales.

Frotis de sangre periférica: en el 91.5% (43/47) de los pacientes se presentó microcitosis, y en el 87.2% (41/47) esferocitosis, al igual que la policromatofilia. En los niños fueron más marcadas las características morfológicas (Tabla 6) y en cuatro (18%) encontramos eritroblastos. Estos no se hallaron en ningún adulto. Observamos otras características morfológicas como acantocitosis y punteado basófilo en el 25 y 22.5% de los casos respectivamente. En el único paciente encontramos células "pinzadas". Se trataba de un adulto con el menor valor de autohemólisis (3.3%). La presencia de cuerpos de Howell Jolly se observó sólo en los dos pacientes esplenectomizados.

El 23.5% del total de nuestros pacientes no presentaron anemia de acuerdo a la edad y al sexo y la mitad de los hombres adultos no tuvo descenso de la hemoglobina.

En el 25% de los pacientes el CHCM estuvo aumentado. Los valores de CHCM no se correlacionaron ni con el nivel de hemoglobina ni con el perfil del test de resistencia globular ni con el patrón de la autohemólisis. Pero en los pacientes con el CHCM superior a la media, predominaban la microcitosis y la esferocitosis en grado moderado o marcado y hubo prevalencia entre los niños.

El 76.5% de los niños y el 26.7% de los adultos tuvieron haptoglobina no dosable. Es importante aclarar que en el grupo pediátrico donde la Hp fue dosable, todos los valores fueron inferiores a los normales, en cambio, dentro de los adultos, el 36.5% de los casos tuvo niveles normales de Hp.

TABLA 1.- prevalencia de esferocitosis hereditaria

Patología	n	%
Síndromes β talasémicos	431	78.0
Esferocitosis	47	8.5
Portadores Hb S	37	6.7
Otras anemias hemolíticas hereditarias*	38	6.8

* deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, eliptocitosis hereditaria, deficiencia de piruvatoquinasa, síndromes α talasémicos, entre otros

TABLA 2.- Grupo pediátrico: pruebas hematológicas

Grupo	Hematíes ($\times 10^{12}/L$)	Hb (g/dL)	HTO (L/L)	V.C.M. (fL)	C.H.C.M. (g/dL)
E.H.	3.84 \pm 0.50	10.5 \pm 1.37	0.32 \pm 0.05	83.4 \pm 6.92	32.90 \pm 1.33
Control	4.34 \pm 0.43	12.28 \pm 0.82	0.38 \pm 0.03	88.12 \pm 5.13	31.44 \pm 1.83
P	0.0004	~0	~0	0.006	0.005

TABLA 3.- Grupo adulto femenino: pruebas hematológicas

Grupo	Hematíes ($\times 10^{12}/L$)	Hb (g/dL)	HTO (L/L)	V.C.M. (fL)	C.H.C.M. (g/dL)
E.H.	3.54 \pm 0.41	10.59 \pm 1.68	0.32 \pm 0.05	91.42 \pm 6.61	32.08 \pm 1.38
CONTROL	4.58 \pm 0.29	12.92 \pm 0.63	0.40 \pm 0.02	87.48 \pm 3.94	32.17 \pm 0.65
P	~0	0.002	~0	0.04	NS

TABLA 4.- Grupo adulto masculino: pruebas hematológicas

Grupo	Hematíes ($\times 10^{12}/L$)	Hb (g/dL)	HTO (L/L)	V.C.M. (fL)	C.H.C.M. (g/dL)
E.H.	4.65 \pm 0.60	13.15 \pm 1.80	0.40 \pm 0.05	86.82 \pm 8.11	33.00 \pm 1.41
CONTROL	4.58 \pm 0.29	12.92 \pm 0.63	0.40 \pm 0.02	87.48 \pm 3.94	32.03 \pm 1.02
P	0.02	0.004	0.002	NS	NS

TABLA 5.- Parámetros bioquímicos

Grupo	E.H.	Control	P
RETICULOCITOS ($\times 10^9/L$)	336.35 \pm 308.34	34.3 \pm 21.37	~0
BILIRRUBINA I (μ moles/L)	36.25 \pm 24.36	9.15 \pm 5.88	~0
LDH (U/L)	236.48 \pm 73.15	177.81 \pm 49.07	0.0009
HAPTOGLOBINA (mg/dL)	27.00 \pm 51.14	129.64 \pm 63.13	0.0006
Hb libre (mg/dL)	3.55 \pm 3.86	1.75 \pm 1.02	0.02

Los datos de las pruebas de resistencia globular osmótica (RGO) y de autohemólisis se encuentran en la Tabla 6.

En el test de resistencia globular analizamos, tanto en condiciones basales como post incubación, el perfil, la fragilidad corpuscular media y la hemólisis incipiente.

Considerando la clasificación de Dacie^{7, 8}, obtuvimos 33 curvas tipo I (70.3%), 9 tipo II (19.1%) y 5 tipo III (10.6%). Ejemplos de cada una están en figuras 1, 2 y 3 respectivamente. De los 14 pacientes que presentaron curvas II y III, 11 eran niños. No encontramos relación entre el tipo de curva y el nivel de hemoglobina o el VCM

TABLA 6.- *Parámetros diagnósticos*

Grupo	Auto ESP (%)	Auto G (%)	F.C.M. (g/dL)	H.I. (g/dL)	F.C.M.p.i. (g/dL)
E.H.	15.54±10.30	4.07±6.01	0.48±0.02	0.61±0.11	0.65±0.07
Control	1.07±0.65	0.53±0.28	0.43±0.02	0.49±0.02	0.53±0.28
P	~0	0.001	~0	~0	~0

Auto: Autohemólisis

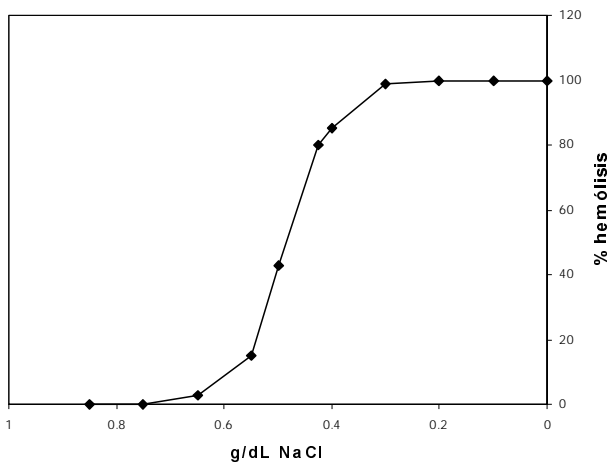


Fig. 1.- Test de resistencia globular. Curva tipo I.
F.C.M.: 0,49 g/dl

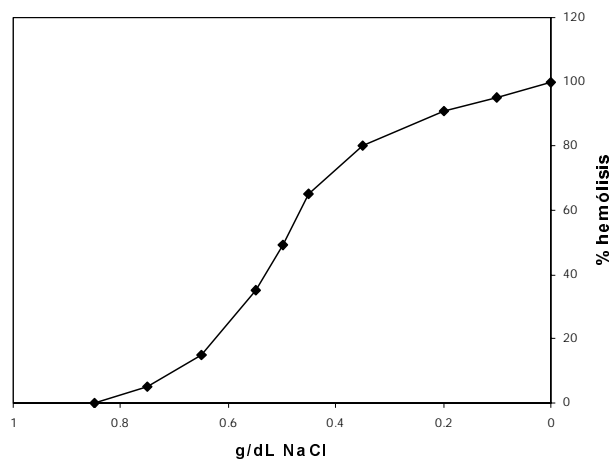


Fig. 3.- Test de resistencia globular. Curva tipo III.
F.C.M.: 0,49 g/dl

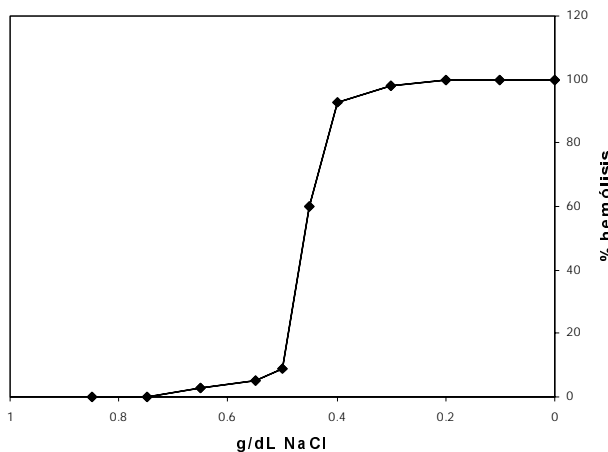


Fig. 2.- Test de resistencia globular. Curva tipo II.
F.C.M.: 0,46 g/dl

hemolítico, se obtuvieron cuatro o más poblaciones en el 6.7% de los pacientes, tres en el 37.8%, dos en el 37.8% y una en el 17.7%. En la mayoría de los casos se trataba de poblaciones con distinto grado de fragilidad y alguna población resistente (producto del aumento de los reticulocitos)

Con respecto al test de autohemólisis, en los dos pacientes esplenectomizados la corrección fue parcial con el agregado de glucosa. Y en una niña, de origen sajón, el valor de la autohemólisis fue el más alto de los obtenidos (35.3%), no corrigió con el agregado de glucosa, coincidió con la presencia de cola en el test de resistencia globular y con marcadas microcitosis, policromatofilia y esferocitosis en el frotis de sangre periférica. La madre no presentó estas características.

Discusión

u otro parámetro bioquímico. Pero, los cinco pacientes del grupo III, tenían haptoglobina ausente y el valor de la autohemólisis espontánea era superior a la media de la población.

En referencia a las poblaciones osmóticamente diferentes, extrapoladas de las curvas de incremento

Si bien en el 26% de nuestros casos no se pudo comprobar alteraciones morfológicas en alguno de sus progenitores, nos resultó de interés considerar algún dato bioquímico o clínico orientativo, producto de la investigación familiar. En un caso se observó un ligero desplazamiento a la izquierda en la curva de resistencia glo-

bular en el padre, en otro, el test de lisis por glicerol acidificado acortado post incubación en la madre. No podemos dejar de considerar una bilirrubina indirecta o ferremia o hemoglobina fetal aumentadas en alguno de los padres o historia de anemia microcítica en algún abuelo. Suponemos que estos casos corresponden a portadores silenciosos, dentro de la clasificación clínica de acuerdo a la severidad⁹.

Aunque la aparición de la sintomatología suele presentarse en la infancia, también puede hacerlo en el período neonatal e incluso en el adulto donde la hemólisis está más compensada y la anemia es muy leve o no existe^{10,11}.

Los pacientes adultos que concurren al Laboratorio lo hicieron o para completar estudios familiares o para conocer la causa de una anemia leve y crónica que no respondía al tratamiento con hierro, o simplemente como chequeo clínico de rutina. Uno de nuestros pacientes, de sexo masculino y de 45 años, fue estudiado por diagnosticarle esferocitosis a dos de sus tres hijos. En el frotis de sangre periférica había microesferocitosis, no presentaba anemia y se le había realizado una colecistectomía unos años antes. Se trataría de una esferocitosis moderada a típica, de acuerdo con la clasificación clínica⁹. Otro caso de interés fue el de un paciente adulto joven con hemofilia A severa que presentaba una hemoglobina más baja a la esperada. Al examen del frotis del sangre periférica había importante porcentaje de esferocitos. Evaluamos a los padres. Los estudios de la madre, portadora de hemofilia, eran normales. En cambio el perfil del laboratorio del padre, de 54 años y con hemoglobina de 16 g/dL, fue compatible con una esferocitosis.

Aunque en muchos casos, al nacimiento, la hemoglobina es normal, se debe hacer un seguimiento durante los primeros meses de vida por el grado de anemia que pueda presentarse. La severidad de la anemia, producto de una inapropiada respuesta eritropoyética y de la alteración de la función esplénica, puede requerir transfusiones¹². Tuvimos un caso (2.9%) de esferocitosis severa diagnosticada a pocos meses de vida con alteraciones importantes en los estudios hematológicos. No presentaba antecedentes en los padres. El test de resistencia globular fue el más alterado de todos los que hemos estudiado, con perfiles totalmente atípicos y con lisis del 20% de los eritrocitos en concentración salina fisiológica. Bibliográficamente se describe la relación entre la deficiencia importante de α espectrina, severidad de la enfermedad y carácter recesivo^{9, 13, 14, 15}.

Si bien los valores en la serie eritroide son variables de acuerdo al tipo de esferocitosis, en el conjunto de los pacientes, los parámetros presentaron diferencias significativas a altamente significativas con respecto al grupo control normal, y más aún en pacientes cuyo diagnóstico se hizo en edad pediátrica^{11, 16-19}. No fue condi-

ción excluyente la presencia simultánea de esferocitos, microcitos y policromatofilia para establecer el diagnóstico ni tampoco la intensidad de cada una de estas características.

En la esferocitosis hereditaria la CHCM suele estar aumentada como consecuencia de la deshidratación de los eritrocitos^{9, 11, 20, 21}. Esto confirmaría la relación encontrada con la microesferocitosis en nuestros pacientes.

El VCM puede estar disminuido, normal o aumentado y depende del grado de reticulocitosis, del nivel de hierro en sangre y del compromiso megaloblástico, entre otras causas. Pero sí es de tener en cuenta que para la descripción de microcitosis en el frotis consideramos dos dimensiones, a diferencia de las tres evaluadas en el contador hematológico. Esto provocaría alguna discordancia¹⁰ entre el valor de VCM por contador hematológico y descripción del frotis de sangre periférica.

La presencia de otras alteraciones morfológicas como acantocitos y hematíes pinzados pueden sugerir determinadas alteraciones de la membrana como defecto de ankirina, banda 3 o defectos cualitativos de la β espectrina^{4, 9, 13, 16}.

Los reticulocitos^{7, 16, 22} pueden estar elevados de dos hasta más de diez veces el valor normal. Si bien entre nuestros pacientes la media fue de $336.35 \times 10^9/L$, casi diez veces la media del grupo normal, en el 37.5% de ellos superó aquel valor y en tres casos el valor absoluto alcanzó más de veinte veces la media normal. En uno de éstos (pediátrico) los reticulocitos correspondieron al 38 % de los eritrocitos del individuo.

La RGO es la prueba de referencia^{7,16,22}. Es importante su análisis detallado. El equilibrio osmótico se consigue con el rápido movimiento de sodio y agua hacia el interior de los eritrocitos. Los eritrocitos van pasando de formas discoidales a esferocíticas y luego lisan. El gráfico resulta en una curva sigmoidea. En el caso de la EH, los eritrocitos tienen menor relación área de superficie/volumen. En medio hipoosmolar, mientras los eritrocitos normales incorporan agua aumentando su volumen (mayor VCM), los esferocitos sufren un proceso de fragmentación, con la consecuente disminución del VCM. Por eso no siempre encontramos una estrecha relación entre recuento de reticulocitos y magnitud de la poblaciones resistentes²⁰. En algunos casos, las curvas presentaron perfiles atípicos como curvas amorfas o líneas rectas (tipo III) lo que revelaría una alteración bioquímica más heterogénea entre los distintos eritrocitos (metabolismo, comportamiento osmótico, estructura de membrana).

El hierro puede estar aumentado como producto de hemólisis, pero no es infrecuente que en los niños se encuentre disminuido. La ferropenia puede interferir en los resultados ya que existirá una población de eritrocitos leptocíticos que son más resistentes al estrés osmótico. En uno de nuestros pacientes pediátricos, con historia

familiar de esferocitosis, recién se pudo confirmar el diagnóstico después de evaluarlo en cuatro oportunidades, debido a sus períodos de ferropenia. Esto alteraba, fundamentalmente, la interpretación de la RGO.

En muchos casos la prueba de RGO^{6, 23} no dio los resultados patológicos esperados y fue necesario sensibilizarla con una incubación a 37° C durante 24 horas. Así, los hematíes se someten a un estrés metabólico (aumento del metabolismo de la glucosa por la vía de Embden-Meyerhoff para compensar los defectos de membrana y tener activa la bomba sodio/potasio-ATPasa dependiente). Luego de las 24 horas, muchos eritrocitos ya estarán "condicionados" y se lisarán a concentraciones salinas mayores. No sólo hubo un importante desplazamiento de la curva hacia concentraciones superiores de NaCl; también, en el 54.3% de los casos, encontramos un porcentaje de esferocitos que lisaba a concentración 1.2 g/dL, tomada como referencia (ejemplo en Figura 4).

Ya que los cambios metabólicos, secundarios al defecto primario de membrana, son el fundamento de RGO y de la autohemólisis, es conveniente realizar esta última en forma^{10, 23} espontánea y con el agregado de glucosa. Semejante a lo que ocurre con la RGO post incubación, se somete a los eritrocitos a un estrés metabólico durante 48 horas. El agregado de glucosa corrige la elevada hemólisis de estos pacientes. Su adición fue necesaria para compensar el defecto que presentan los esferocitos. Este patrón de autohemólisis es sólo compartido con el defecto de trifosfoisomerasa.

De acuerdo al estado clínico del paciente, puede existir un porcentaje de esferocitos en estado prelítico que den a RGO la cola característica y no respondan a la adición de glucosa en la autohemólisis. Esto habla de un condicionamiento esplénico^{7, 8, 10, 24} (medio hipoglucémico,

hipóxico y acidótico) y no es siempre constante en cada individuo. En dos casos la autohemólisis no corrigió con el agregado de glucosa: la niña ya mencionada (35.3 vs 34.8%) y un adulto quien no repitió ese perfil en otro estudio, pero mantenía un comportamiento atípico en la RGO incubada.

En los estudios familiares nos resultó de importancia la búsqueda de microesferocitos (aunque no existiera anemia) y la evaluación del RGO tanto basal como post incubación, y de la autohemólisis. Pero debimos considerar también la alteración de parámetros bioquímicos indicativos de hemólisis para la búsqueda de portadores. En algunos casos donde estas determinaciones no dieron un resultado concluyente se realizó el test de lisis de glicerol acidificado incubado.

El estudio familiar también colabora para descartar otras causas de anemias hemolíticas esferocíticas, como la incompatibilidad ABO en el período neonatal⁷.

Importante sería el estudio de las proteínas de la membrana, aunque, al igual que la biología molecular, no es aplicable en la práctica diaria. Pero debe considerarse que igualmente hay un porcentaje de familiares estudiados en los que no se puede comprobar la EH ni aún con el estudio electroforético^{3, 9}. Esto se debe a bajo descenso de la proteína afectada, desdoblamiento de una determinada proteína, pérdida de proteínas, entre otras causas. Se sabe que la intensidad del defecto proteico se relaciona con la expresión clínica de la enfermedad, los parámetros bioquímicos de hemólisis, los valores del RGO, la respuesta al agregado de glucosa en la autohemólisis, con el tamaño del bazo y con la respuesta a la esplenectomía^{2, 3, 15, 16, 25}.

Cuanto más marcada es la microcitosis, más alterado estará el test de resistencia globular. Si bien no pudimos realizar un cálculo estadístico, comprobamos que la mayoría de los pacientes con moderada o marcada microcitosis tenían presencia de cola en el test de resistencia globular. Si bien la microesferocitosis es bastante constante en casi todos los pacientes, la microcitosis se halló en mayor número de pacientes que la esferocitosis. El análisis detallado de la morfología, su intensidad y la relación con la RGO permite plantear si la microcitosis en estos pacientes, más que la esferocitosis, es la causante de los mayores cambios en las pruebas diagnósticas. O sea, en esta patología un microcito sería la expresión más alterada. Sería la expresión final antes de llegar a la lisis, donde se encuentra más agotada su capacidad metabólica, situación donde hay mayor rigidez y menor deformabilidad al atravesar la microcirculación esplénica (sitio extravascular de lisis).

En el estudio de nuestros 47 pacientes, a pesar de ser no ser una muestra muy numerosa observamos heterogeneidad en el laboratorio hematológico relacionado con los resultados de la RGO, la autohemólisis e

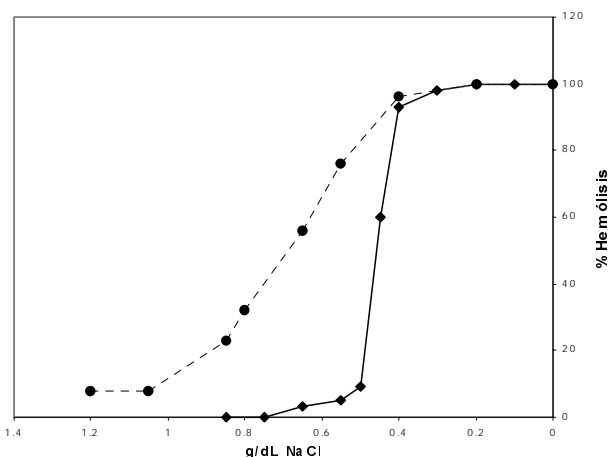


Fig. 4.- Test de resistencia globular. Curvas basal y post incubación

Basal: μ F.C.M.: 0,49 g/dL

Post incubación: - F.C.M.: 0,67 g/dL

incluso en la morfología eritrocitaria. Nos podríamos plantear la heterogeneidad en las bases moleculares.

El interés de la presentación fue presentar los resultados de distintas pruebas de laboratorio en nuestro medio poblacional y realizar un análisis de dichas pruebas para arribar, desde el laboratorio, a un diagnóstico presuntivo. Consideramos que las pruebas, en conjunto, y la RGO especialmente, son diagnósticas. Ante la sospecha de una presunta microesferocitosis nos resultó de utilidad la aplicación del protocolo ya expuesto y establecer criterios de selección basados en el mismo.

Agradecimientos: A María de Luján Calcagno y a Katia Canalejo por la colaboración en el trabajo.

Bibliografía

- Coetzer T, Lawler J, Liu S, et al. Partial ankyrin and spectrin deficiency in severe atypical hereditary spherocytosis. *N Engl J Med* 1988; 318: 230-4.
- Miraglia del Giudice E, Iolascon A, Pinto L, Nobili B, Perrotta S. Erythrocyte membrane protein alterations underlying clinical heterogeneity in hereditary spherocytosis. *Br J Haematol* 1994; 88: 52-5.
- Palek J, Jarolim P. Clinical expression and laboratory detection of red blood cell membrane protein mutations. *Semin Hematol* 1993; 30: 249-83.
- Gallagher P, Forget B. Spectrin genes in health and disease. *Semin Hematol* 1993; 30 : 4-21.
- Sheetz M. Membrane skeletal dynamics: role in modulation of red cell deformability, mobility of transmembrane proteins, and shape. *Semin Hematol* 1983; 20 : 175-88.
- Aixalá M. Laboratorio de anemias. Manual de técnicas Laboratorio de anemias Bergna-Lazzari (ed). I.I. Hematológicas, Academia Nacional de Medicina. V., Buenos Aires: Alsina, 1991.
- Sáenz G. Cuadros de esferocitosis: síndromes y aspectos diagnósticos. *Sangre* 1983; 28: 330-40.
- Dacie J. The hereditary haemolytic anaemias, vol.1 Edinburg: Churchill Livingstone, 1985.
- Hassoun H, Palek J: Hereditary spherocytosis: a review of the clinical and molecular aspects of the disease. *Blood Rev* 1996; 10: 129-47.
- Sans-Sabrafen J. Hematología Clínica. 2 ed. Barcelona: Doyma, 1988.
- Lux S, Wolfe L. Trastornos heredados del esqueleto de la membrana del eritrocito. clínicas pediátricas de norteamérica. Hematología pediátrica. 1ºEd. México: Interamericana, 1980.
- Delhommeau F, Cynober T, Schischmanoff P, et al: Natural history of hereditary spherocytosis during the first year of life. *Blood* 2000; 95: 393-7.
- Palek J. Hereditary elliptocytosis, spherocytosis and related disorders: consequences of a deficiency or a mutation of membrane skeletal proteins. *Blood Reviews* 1987; 1: 147-168.
- Cynober T, Mohandas N, Tchernia G. Red cell abnormalities in hereditary spherocytosis: relevance to diagnosis and understanding of the variable expression of clinical severity. *J Lab Clin Med* 1996; 128: 259-69.
- Eber S, Armbrust R, Schroter W. Variable clinical severity of hereditary spherocytosis: relation to erythrocytic spectrin concentration, osmotic fragility and autohemolysis. *J Pediatr* 1990; 117: 409-16.
- Ayala S, Besson L, Aymerich M, Berga L, Vives Corrons J: Alteraciones proteicas de la membrana eritrocitaria en la esferocitosis hereditaria y su relación con la expresividad clínica y biológica de la enfermedad. *Med Clin (Barc)* 1995; 105: 45-9.
- Aixalá M, Podestá S, García M. Esferocitosis hereditaria: revisión de laboratorio. *Bol A N Med* 1989; 67: 303-14.
- Canalejo K, Calcagno M, Aixalá M. Revisión de 34 casos de esferocitosis hereditaria. *Bol A N Med* 1996; 74: 493-503.
- Aixalá M, Calcagno M, Canalejo K. Revisión de 34 casos de esferocitosis hereditaria. *Acta Bioq Clín Latinoam* 1999; 33: 2, 225-34.
- Chiron M, Cynober T, Mielot F, Tchernia G, Croisille L. The Gen.S: a fortuitous finding of a routine screening test for hereditary spherocytosis. *Hematol Cell Ther* 1999; 41: 113-6.
- Gilsanz F, Ricard M, Millan I. Diagnosis of hereditary spherocytosis with dual-angle differential light scattering. *Am J Clin Pathol* 1993; 100: 119-22.
- Wintrobe M. Hematología Clínica. 9º ed. Buenos Aires: Intermédica, 1994.
- Vives J, Aguilar J. Manual de técnicas de laboratorio en hematología. 2º ed. Barcelona: Masson SA, 1997.
- Emerson C, Shen S, Ham T, et al. : Studies on the destruction of red blood cells. IX. Quantitative methods for determining the osmotic and mechanical fragility of red cells in the peripheral blood and splenic pulp; the mechanism of increased hemolysis in hereditary spherocytosis (congenital hemolytic jaundice) as related to the function of the spleen. *Arch Intern Med* 1956; 97: 1-38.
- Agre P, Asimos A, Casella J, Mc Millan C. Inheritance pattern and clinical response to splenectomy as a reflection of erythrocyte spectrin deficiency in hereditary spherocytosis. *N Engl J Med* 1986; 315: 1579-83.

I recommend you take care of the minutes, for the hours will take care of themselves.

Le recomiendo que tenga cuidado de los minutos, pues las horas ya cuidarán de sí mismas.

Lord Chesterfield (1694-1773)