

**ESTUDI DE L'ANÈMIA FALCIFORME I  
ELS SEUS MÈTODES DIAGNÒSTICS**

## **AGRAÏMENTS**

*M'agradaria agrair la gran ajuda rebuda per part de la Dra. M.S i el seu departament del laboratori d'hematologia de l'Hospital Santa Caterina de Salt. M'han fet sentir com un membre més dins l'equip.*

*En especial vull regraciar a la Dra. M per ser el pilar fonamental del meu projecte, gràcies pel suport, la disposició constant per qualsevol dubte, les correccions, les orientacions i les oportunitats. També vull anomenar l'acceptació rebuda per part del centre, i l'oportunitat de treballar amb material real i obtenir dades. Sense aquesta gran opció, el meu treball no hagués estat viable.*

*Destacar els hematòlegs Dr. D.C i Dr. J.V per ensenyar-me a aconseguir diagnòstics a partir dels valors de les probes i, sobretot, per permetre'm apropar-me a la realitat de la malaltia podent accedir a la consulta.*

*També vull esmentar la calidesa i comprensió dels pacients patològics al rebre una estudiant a la seva consulta.*

*Estic segura que no podria anomenar en aquesta pàgina tota la gent que ha contribuït en aquest projecte en petita o gran mesura. Així doncs, prefereixo generalitzar-ho per tal que tothom qui se senti part del treball rebi l'agraïment merescut: gràcies.*

# ÍNDEX

<b>1. INTRODUCCIÓ</b>	<b>3</b>
<b><i>PART TEÒRICA</i></b>	<b>6</b>
<b>2. COS DEL TREBALL</b>	<b>7</b>
<b>2.1 DESCOBRIMENT DE L'ANÈMIA FALCIFORME</b>	<b>7</b>
2.1.1 Hemoglobina	7
2.1.2 Hemoglobinopaties	9
<b>2.2 ANÈMIA DREPANOCÍTICA</b>	<b>13</b>
<b>2.3 EPIDEMIOLOGIA (SELECCIÓ I DISPERSIÓ DEL GEN FALCIFORME)</b>	<b>17</b>
<b>2.4 FISIOPATOLOGIA (PROCESSOS PATOLÒGICS)</b>	<b>19</b>
2.4.1 Anormalitats dels eritròcits falciformes	22
<b>2.5 ETIOPATOGENÈSIS</b>	<b>25</b>
2.5.1 Probabilitat d'heretar una ACF	25
<b>2.6 CITOLOGIA</b>	<b>26</b>
<b>2.7 CLÍNICA</b>	<b>27</b>
2.7.1- Síntomes i Signes	28
2.7.2- Complicacions clíniques	30
2.7.3- Factors de risc	38
<b>2.8 DIAGNÒSTIC</b>	<b>39</b>
2.8.1 Elements estudiats durant el diagnòstic	39
2.8.2 Tècniques de diagnòstic i procés de classificació d'anèmies	41
2.8.2.1 Hemograma	41
2.8.2.2 Citometria de flux	48
2.8.2.3 Cromatografia líquida d'alta resolució (HPLC)	51
2.8.2.4 Electroforesi capil·lar (EC)	53
<b>2.9 TRACTAMENT</b>	<b>56</b>
2.9.1. Tractament per el dolor	56
2.9.2 Tractament per les complicacions clíniques	58
2.9.3 Tractaments innovadors	64
<b>2.10 SEGUIMENT I PRONÒSTIC</b>	<b>66</b>
<b>2.11 PREVENCIÓ I CRIBATGE</b>	<b>67</b>
<b><i>PART PRÀCTICA</i></b>	<b>69</b>
<b>3. ESTUDI</b>	<b>70</b>
<b>3.1 RESUM</b>	<b>70</b>
<b>3.2 PARAULES CLAU</b>	<b>70</b>
<b>3.3 OBJECIUS</b>	<b>70</b>
<b>3.4 MATERIAL I MÈTODES</b>	<b>71</b>
<b>3.5 RESULTATS</b>	<b>73</b>
3.5.1. Estudi diagnòstic d'11 pacients	73

3.5.2. Comparació de 5 casos de drepanocitosi	77
<b>3.6 DISCUSSIÓ</b>	<b>83</b>
<b>4. CONCLUSIONS</b>	<b>86</b>
<b>5. BIBLIOGRAFIA</b>	<b>88</b>

# 1. INTRODUCCIÓ

El meu treball de recerca es basa en una malaltia en concret, la drepanocitosi, però no només en el seu descobriment, les seves complicacions i la malaltia en si mateixa, sinó sobretot centrant-se en els mètodes que s'utilitzen per diagnosticar-la. És una malaltia hereditària (segueix els patrons genètics de l'herència mendeliana) i apareix fonamentalment en persones de la raça negra. La mobilitat poblacional dels darrers anys ha fet incrementar l' incidència d'aquesta malaltia en el nostre territori.

És un tema que he trobat molt interessant des d'un principi perquè compleix tots els requisits que tenia en ment. M'interessava un treball clínic de l'àmbit mèdic amb una part experimental.

També em va ajudar molt a decidir-me a escollir-lo el fet que és una cosa molt actual i poc estudiada. La nostra zona geogràfica fins fa pocs anys no era considerada com a zona freqüent; però durant els últims anys l'augment de casos ha provocat l'inici de molts estudis dedicats al tema i ha permès treure'n mètodes diagnòstics. A la zona de Girona, al 2008, hi havia una incidència de només 1 cas i al 2016 ja hi va haver entre 10 i 12 casos. És una malaltia que va en augment, que està dispersa pel món i que és necessari el seu estudi.

També vaig tenir en ment des d'un primer moment que és una malaltia hereditària, és a dir involucra el tema genètic que és de gran interès per mi. A més, aquest fet va esdevenir un factor a favor al moment de l'elecció, ja que vaig veure que podria parlar amb persones afectades, veure-les i sentir com és realment la malaltia sense prendre cap mena de risc ja que és impossible d'encomanar.

Em vaig decidir més per la branca de diagnòstic perquè veure que la millora constant de les tècniques permetia evitar molts naixement amb la desastrosa malaltia i augmentar la durada de la vida em va captivar. Saber que a partir d'una detallada avaluació, selecció i diversos consells genètics es podien evitar vides de patiment va ser el que em va interessar.

La idea de poder accedir a uns laboratoris per tal de realitzar la part pràctica del treball també em va motivar moltíssim. Tenia clar que era el sector que m'interessava, però, a més, volia veure com eren en realitat els processos i la vida allà dins.



Els meus objectiu principals són els següents:

- Resoldre'm els dubtes de la malaltia, conèixer la patologia. Assolir saber què és la drepanocitosi i tenir coneixements sobre aquesta.
- Descobrir el significat d'anèmia i les varietats d'aquesta. Sobretot estudiar el procés diagnòstic que s'ha de seguir per determinar-ne cada una d'elles i classificar-les.
- Analitzar quin és el procés metodològic per diagnosticar la malaltia. Com funciona el mètode, quina maquinària requereix i quines bases científiques segueix.
- Comprovar si el mètode diagnòstic utilitzat en l'anèmia falciforme és útil valorant alhora la dificultat de realització i els resultats obtinguts.
- Descobrir si aquest mètode utilitzat es pot dur a terme en tots els casos (malalts, portadors...) i si és així les diferències que hi ha en cada un d'ells.
- Estudiar els defectes que pateix l'hemoglobina dels glòbuls vermells per causar la patologia.
- Localitzar la dispersió de la patologia i l'afectació d'aquesta arreu del món.
- Descobrir les complicacions clíniques de la malaltia i les afectacions d'aquesta en el funcionament del cos.
- Iniciar-me en el món de la medicina i obrir-m'hi les portes per poder ajudar-me a determinar si és l'especialitat que m'interessa pel meu futur. Veure realment que significa treballar dins un laboratori i distingir les diferents especialitats dins el sector.
- Veure la realitat de la malaltia, com són els malalts, com ho pateixen, com són les visites i com és el tracte amb ells.
- Descobrir si puc aconseguir realitzar un diagnòstic jo mateixa a través de les proves utilitzades avui en dia amb les meves capacitats.
- Verificar l'eficàcia del mètode actual, la seva importància i validesa

Per tal de poder estudiar i realitzar els mètodes de diagnòstic de la malaltia iniciaré el meu treball resolent-me molt dels dubtes bàsics que tinc sobre la patologia. Així doncs, la primera part del meu projecte es basarà en preguntes com: Què és la drepanocitosi? Com es va descobrir? Per on està estesa? Quins efectes provoca l'hemoglobina defectuosa als eritròcits? Tots aquests dubtes els aniré resolent i les dades obtingudes seran el resultat que complirà el meu primer objectiu, conèixer la malaltia. Aquesta informació l'aniré resolent a través de la lectura de fonts bibliogràfiques fiables (la majoria d'elles revistes científiques d'àmbit internacional i llibres de text) i gràcies al coneixement d'especialistes en el sector que m'ajudaran durant el projecte.

A més, abans de la meva estada als laboratoris, començaré a estudiar els diferents tipus d'anèmies, els mètodes que s'utilitzen, les tècniques, la maquinària...Tota aquesta informació serà la que formarà la segona part del projecte.

Un cop tingui els conceptes bàsics assolits, iniciaré la part pràctica, és a dir, compliré gràcies a l'estada a l'hospital Santa Caterina el meu objectiu principal. Cal destacar que aquesta estarà escrita en format d'article científic. La primera fase d'aquesta part consistirà en agafar onze casos de pacients reals amb símptomes d'anèmia. El meu objectiu és, a partir de les tècniques del laboratori, anar fent les proves un per un i observant-ne els resultats fins arribar a aconseguir diagnosticar la patologia en cada cas. Des del meu punt de vista serà una part interessant del treball perquè comprovaré gràcies a l'aprenentatge previ realitzat durant la part teòrica si sóc capaç de diagnosticar els pacients pel meu propi compte.

La segona part consistirà en treballar cinc casos actuals de pacients amb drepanocitosi. Els utilitzats seran tres afectats de la malaltia molt diferents, per poder observar les diferents fases de l'evolució del pacient segons el moment de la trajectòria que pateixen i el tractament que reben i poder-los comparar; un quart cas que té heterozigosi d'hemoglobina S i heterozigosi d'una altra hemoglobina i un cinquè cas, portador de la malaltia.

La tercera part es basarà en assistir a la consulta de l'hematòleg amb algun dels cinc malalts d'anèmia falciforme que hauré treballat. Segons la meva opinió, tenir la possibilitat de conèixer i veure realment com pateixen la patologia, despès d'haver-ne estudiat tots els paràmetres, em permetrà adornar-me de la importància de fer un bon diagnòstic als malalts i serà una manera de veure en la realitat l'estudi fet i de concloure el treball. Sempre tenint en compte la confidencialitat dels pacients i l'obligació de mantenir anònimes les dades obtingudes.

## **PART TEÒRICA**



## **2. COS DEL TREBALL**

### **2.1 DESCOBRIMENT DE L'ANÈMIA FALCIFORME**

La síndrome de la malaltia és conegut des de fa centenars d'anys per la medicina tradicional africana, però el nom «Anèmia de cèl·lules falciformes» va ser utilitzat per primera vegada al 1910 per parlar de la malaltia d'un home granadí jove que va ser ingressat a un hospital de Chicago per episodis molt dolorosos i símptomes d'anèmia. Al 1940, dos científics, Ham i Castle, van postular que la patobiologia de l'anèmia falciforme era causada per un cicle violent que incloïa eritrostasis (aturada del pas d'eritròcits pels conductes sanguinis) i producció d'eritròcits falciformes, fets que creaven un canvi violent en la viscositat sanguínia. Al 1949, Neel va validar que la malaltia seguia la genètica mendeliana amb dominància autosòmica. Pocs temps després, Pauling (famós químic i guanyador de Premi Nobel) també va confirmar la presència d'hemoglobina anormal tant en els malalts com en els portadors. Un descobriment posterior va permetre veure la poca solubilitat de l'hemoglobina desoxigenada dels malalts. En 1957, Ingram va descobrir els detalls de la malaltia desxifrant la substitució d'aminoàcids errònia que la provocava. A partir d'aquest moment moltes investigacions més detallades s'han estat duent a terme. Aquestes han conduït el descobriment d'una gran varietat d'hemoglobines.

L'anèmia falciforme va ser reconeguda com la primera malaltia molecular. És causada per homozigosis del gen mutat de la beta globina. En ser descoberta va trencar la teoria de “un únic gen causant de les malalties” que es creia fins aquell moment. L'inici del descobriment de la malaltia va ser complicat ja que hi havia una gran falta de coneixement de la seva patobiologia (ciència que estudia les causes i els efectes de les malalties) degut a que aquesta estava formada per molts conceptes diferents i incloïa la participació de diverses influències genètiques.

#### **2.1.1 Hemoglobina**

L'hemoglobina (Hb) és un tetràmer (quatre unitats) de cadenes polipeptídiques anomenades globines amb un anell de porfirina (compost orgànic) que conté ferro i un grup hemo (proteïna responsable de la coloració vermella de la sang) unit a cada subunitat. És una ferroproteïna que es troba a l'interior del hematies. L'hemoglobina és el paràmetre més important per mesurar l'anèmia. Varia segons el volum plasmàtic (volum de plasma sanguini). Podem

trobar sis tipus de globines que es divideixen en dos grup: les cadenes  $\alpha$  ( $\alpha$  i  $\zeta$ ) i les cadenes  $\beta$  ( $\epsilon$ ,  $\gamma$ ,  $\sigma$  i  $\beta$ ).

Les cadenes  $\alpha$  i  $\beta$  estan codificades per grups genètics independents, però tenen una producció coordinada per tal d'assegurar que la quantitat fabricada és equivalent en els dos tipus de cadenes. El grup de gens que codifiquen per les cadenes  $\alpha$  es troben al cromosoma 16 mentre que el grup que codifica per les cadenes  $\beta$  està situat al cromosoma 11. L'estructura dels gens en tots dos casos és molt similar ja que tots dos presenten tres zones amb exons (àrees transcrites).

Durant la síntesi d'Hb, que s'inicia en els eritroblasts basòfils tardans (eritròcit que encara conté el nucli) i continua fins la maduració dels reticulòcits, s'importen grans quantitats de ferro als eritroblasts, però aquest ferro es dirigeix cap a la síntesi d'hemo. Grans quantitats d'hemo produïdes als eritroblasts s'incorporen ràpidament a l'Hb sense acumulació d'excés de cadenes de globina o hemo. El ferro intercel·lular i l'hemo controlen la síntesi d'Hb en els eritroblasts a través de múltiples mecanismes.

Com a resultat de la síntesi de les diferents cadenes de globina en els diferents estadis de la vida, existeixen diferents tipus d'hemoglobina que trobarem en els glòbuls vermells. S'han descrit més de 1000 variants diferents d'Hb. La majoria d'elles són degudes a una mutació puntual que determina la substitució d'un únic aminoàcid. En la majoria de casos aquest canvi estructural no causarà alteracions de solubilitat, d'estabilitat ni de funció, per això se'ls coneix com a casos asimptomàtics o silenciosos. Tot i això les variants més freqüents anomenades comunes si que presentaran problemes clínics com canvis en l'estabilitat del funcionament de l'hemoglobina, anèmia hemolítica, defectes en el transport d'oxigen o acumulacions d'hemoglobina.

Les causes de les alteracions quantitatives d'aquest paràmetre (anèmia i eritrocitosis) són les mateixes que les causes de les alteracions en els hematies. Tot i això les xifres d'Hb són més sensibles que les d'hematies, es modifiquen més fàcilment. A més els valors d'Hb inferiors a 8 g/dl i els superiors a 18g/dl estan pràcticament sempre relacionats amb estats patològics.

Existeixen molts tipus d'hemoglobines. Les més comunes i importants són les següents:

### **Hemoglobines normals:**

- Hemoglobina A: És l'hemoglobina normal que es produeix després del naixement en un cos sa. És la més comuna al cos amb una quantitat normal de més d'un 95%.
- Hemoglobines Gower I i II i Portland: Són hemoglobines embrionàries. La Portland només és present al fetus durant el final del primer trimestre d'embaràs. L'Hb Gower II és la més important.
- Hemoglobina F: És la coneguda com a hemoglobina del fetus i és la predominant durant l'embaràs. La producció d'aquesta hemoglobina disminueix després del naixement fins gairebé desaparèixer.

### **Hemoglobines anormals:**

- Hemoglobina S (HbS): És la variant trobada en les persones que pateixen anèmia falciforme. La variació genètica de la cadena beta genera aquest tipus d'hemoglobina i provoca la malaltia.
- Hemoglobina C (HbC): És produïda per una mutació en un gen de la cadena beta i causa una anèmia hemolítica lleu crònica.
- Hemoglobina E (HbE): Aquesta variant genera una anèmia suau amb esplenomegàlia (creixement de la melsa). És molt comuna a l'Àsia.

Durant el període adult, l'HbA forma entre el 96 i el 98% de l'Hb total, la HbA<sub>2</sub> constitueix entre el 2 i el 3,5%, i l'Hb F constitueix menys del 2%.

En canvi un nadó acabat de néixer, té un 80% de la seva hemoglobina total fetal, només un 20% és HbA i menys d'un 1 % és HbA<sub>2</sub>. Tot i això a partir del naixement, disminuirà la producció de la cadena  $\gamma$  (fetal) i augmentarà la síntesi de cadena  $\beta$ , fet que provocarà que el nadó presenti nivells d'hemoglobina iguals que un adult durant el primer any de vida.

### **2.1.2 Hemoglobinopaties**

La globina és la part proteica de l'hemoglobina i permet que la molècula transporti eficientment l'oxigen. Les mutacions de l'hemoglobina causen les importants malalties anomenades hemoglobinopaties, entre les quals hi ha l'anèmia de cèl·lules falciformes. Aquestes malalties formen un grup de trastorns hereditaris autosòmics generalment recessius,

que es caracteritzen per una alteració en la síntesi de les cadenes de globina que formen l'hemoglobina (Hb) degut a mutacions puntuals, a delecions o a insercions en els gens que codifiquen aquestes cadenes.

Es classifiquen en dos grups: talassèmies i hemoglobinopaties estructurals. En les del primer grup hi ha una disminució o absència total de síntesi d'una o de diferents cadenes de globina (alteració quantitativa). En les del segon grup hi ha un canvi d'aminoàcid o aminoàcids en l'estructura d'alguna de les cadenes (alteració qualitativa). També existeix un tercer grup, menys conegut, anomenat hemoglobinopaties talassèmiques en les quals hi ha una combinació de l'efecte qualitatiu i el quantitatiu. El que succeeix és que es produeix la mateixa quantitat d'Hb, però menys quantitat d'Hb amb estructura anormal.

Les talassèmies i les anèmies de cèl·lules falciformes són les formes d'expressió de la malaltia més freqüents i les causants de problemes amb efectes majors a la salut de moltes poblacions.

Alguns estudis mostren que més del 4'5% de la població mundial és portadora d'Hb patològica i que neixen 300.000 nens cada any amb un trastorn d'hemoglobina.

#### Talassèmies i Síndromes talassèmiques

La talassèmia és un grup de defectes que provoquen complicacions clíniques diverses. Són causades degut a mutacions puntuals o delacions dels gens de la globina, fet que provoca la disminució de la síntesi de les cadenes de globina normals. Com a conseqüència d'aquest fet hi ha un desequilibri en la síntesi de cadenes que crea els efectes patològics. S'han detectat gairebé 500 mutacions responsables de la talassèmia. Les mutacions als gens  $\alpha$  i  $\beta$  són greus perquè disminueixen la producció d'Hb A.

Clínicament les talassèmies es poden dividir segons la seva expressivitat en quatre grups: portador silenciós, talassèmia minor, talassèmia intermèdia i talassèmia mayor . La mayor és la que causa complicacions més greus i requereix transfusions sanguínies cròniques. La talassèmia intermitja pot tenir complicacions clíniques variables fins a arribar a requerir transfusions ocasionals. La minor descriu els portadors asimptomàtics de la malaltia que es detecten quan hi ha un hemograma alterat. Es coneixen com a portadors silenciosos aquells que presenten un canvi de producció de cadenes tan baix que no es veu reflectit a l'hemograma.

Hi ha diversos tipus de talassèmies:

La disminució de la síntesi de la cadena  $\alpha$  s'anomena  $\alpha$ -talassèmia; la disminució de la síntesi de la cadena  $\beta$  s'anomena  $\beta$ -talassèmia i així successivament. La talassèmia és el resultat de la delació d'una gran part d'un gen o d'un gen sencer, com és el cas de l' $\alpha$  o és el resultat de petites mutacions puntuals, com és el cas de la  $\beta$ -talassèmia. Aquestes es poden classificar segons la taula següent:

<b>Tipo de talasemia</b>	<b>Cadena afectada</b>	<b>Hemoglobina amb síntesis reduïda</b>
Alpha: $\alpha^0$ o $\alpha^+$	A	A, A <sub>2</sub> y F
Beta: $\beta^0$ o $\beta^+$	B	A
Gamma: $\gamma$	$\Gamma$	F
Delta: $\delta^0$ o $\delta^+$	$\Delta$	A <sub>2</sub>
Delta $\beta$ : $\delta\beta^0$ o $\delta\beta^+$	$\delta$ y $\beta$	A y A <sub>2</sub>
<sup>A</sup> Gamma delta $\beta$ : <sup>A</sup> $\gamma\delta\beta^0$	<sup>A</sup> $\gamma, \delta$ y $\beta$	A y A <sub>2</sub>
Epsilon gamma delta $\beta^*$ : $\epsilon^G \gamma^A \gamma\delta\beta^0$	$\epsilon, \gamma^G, \gamma^A, \delta$ y $\beta$	A, A <sub>2</sub> y F*
Hemoglobina Lepore	$\delta$ y $\beta$	A y A <sub>2</sub>

*Taula 1*

*Biologia molecular en el diagnòstico de las hemoglobinopatías.*

### Hemoglobines estructurals

En les hemoglobinopaties estructurals, depenent de la naturalesa i de la localització de l'aminoàcid o els aminoàcids substituïts es determinen canvis diferent en la solubilitat, l'estabilitat i la funció. Són alteracions de les cadenes  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\sigma$ , ó  $\Upsilon$  que poden causar: defectes en la solubilitat -són conegudes com a inestables- o defectes en la solubilitat i la funció que es deuen a la seva afinitat amb l'oxigen.

S'han detectat més de 1300 variants la majora de les quals són asimptomàtiques degut a l'alta proporció d'HbA.

Les més freqüents i greus són les que afecten el gen HbB, responsable de la cadena beta globina: Hemoglobinopaties S, C, D i E.

### Altres hemoglobinopaties estructurals

A més dels casos ja mencionats, existeixen també dos grups d'hemoglobinopaties menys conegudes per la seva poca freqüència: són les hemoglobinopaties inestables i les que presenten l'afinitat amb l'oxigen alterada.

En el cas de les inestables, són causades per mutacions que desestabilitzen la molècula d'Hb i faciliten la seva desnaturalització. Contràriament als casos més coneguts, el seu patró és autosòmic dominant i provoca una anèmia hemolítica i una disminució de la vida dels eritròcits.

Les hemoglobinopaties d'alta i baixa afinitat són degudes a mutacions que afecten regions de la molècula relacionades amb canvis de conformació. Les més comunes són les d'alta afinitat amb l'oxigen que s'observen quan es presenta una eritrocitosi. En el cas contrari, en les de baixa afinitat, es produeix una disminució del número d'hematies i de la concentració d'Hb.



## 2.2 ANÈMIA DREPANOCÍTICA

L'anèmia falciforme (ACF) també anomenada anèmia de cèl·lules falciformes o drepanocitosi, va ser reconeguda com la primera malaltia de les cadenes de la globina. El fet patològic fonamental que la causa és la presència d'Hb S en homozigosis en el gen de la beta globina. També pot aparèixer degut a la combinació del gen HbS amb una altra Hb anormal que afecti la cadena beta.

El nom de la malaltia és assignat per la forma que assoleixen els eritròcits ja que en llatí *falcis* significa falç i *forme* forma, és a dir forma de falç. (afegit)

L'anèmia falciforme és una malaltia causada per un caràcter autosòmic recessiu. Apareix quan hi ha homozigosis en l'HbS com a resultat de dos pares portadors heterozigots asimptomàtics. L'aparició d'hemoglobina falciforme és causada per una substitució d'una adenina (A) per un timina (T). Això causa el canvi de triplet de GAG a GTG al codó sis del gen de la  $\beta$ -globina. El resultat del procés és el reemplaçament d'un àcid glutàmic per una valina. Aquest canvi produeix una tendència a que l'Hb es polimeritzi en condicions de baixa oxigenació, fet que provoca un canvi a la forma de l'hematia, deixant-li la característica forma de falç per la qual la malaltia està denominada. Com a conseqüència de les mutacions del gen de la beta globina es produeix una absència total o parcial de l'Hb A. L'aparició dels primers símptomes no apareix fins després dels primers tres mesos de vida degut a que durant aquest període encara hi ha una alta prevalença d'HbF que protegeix el nadó.

Actualment l'ACF és a Espanya l'anèmia hereditari amb major impacte sanitari, tant per l'increment de la seva prevalença degut a les migracions com per les manifestacions clíniques associades. Segons estudis de l'any 2016, de 715 pacients amb hemoglobinopaties registrats, 615 tenien drepanocitosi. El 51% dels casos havien estat detectats amb l'estudi neonatal.

Uns altres gens que determinen altres variants de la beta globina tenen codominància amb aquest gen. Uns altres exemples de síndromes falciformes serien: combinacions de l'HbS amb la cadena normal  $\beta^A$ , cadenes mutades ( $\beta^C$ ,  $\beta^o$ ,  $\beta^+$  talassèmia) o presència d'hemoglobina fetal (HPFH). L'aparició d'heterozigosis de la cadena  $\beta^S$  genera síndromes clínics diferenciats i definits com l'HbAS, l'HbSC, l'HbS- $\beta$ -talassèmia.

La forma heterozigota de la malaltia apareix quan la mutació afecta només un al·lel dels que codifiquen per la cadena  $\beta$ -globina. En aquest cas l'individu presenta un percentatge relatiu

d'HbS menor al 40% i no té manifestacions clíniques. És molt freqüent trobar-se casos  $\alpha$ -talassèmia en estat heterozigot amb l'HbS.

És l'hemoglobinopatia més freqüent amb una incidència d'1 de cada 600 recent nascuts als Estats Units. A Espanya s'ha registrat en algunes zones una incidència d'1 de cada 5000 nounats. El 8% dels africans americans tenen el gen  $\beta^S$ , el 3% tenen el gen  $\beta^C$  i l'1'5% tenen el gen de la talassèmia. En els africans americans 1 de cada 600 naixements és homozigot per l'anèmia falciforme (HbSS) i un de cada 400 té alguna de les variants de l'anèmia falciforme. Actualment el 75% de naixements amb anèmia falciforme neixen a l'Àfrica subsahariana, el 15% a la Índia, el 5% a Amèrica, el 4% a l'Est mediterrani i només l'1% a Europa.

El gen de la  $\beta$ -globina (HBB) és en un grup de gens que codifiquen per la cadena  $\beta$ . L'haplotip és l'expressió comuna d'al·lels situats en zones diferents d'un cromosoma i la relació de les proteïnes que resulten d'aquesta expressió. Les diferents combinacions d'aquests haplotip, determinen l'aparició de l'haplotip senegalès, bantu, camerunès, o àrab-indi. Cada designació es refereix a la regió geogràfica on l'anèmia falciforme ha tingut més freqüència.

Altres factors, a part de la beta globina, contribueixen a que hi hagi una gran diversitat de fenotips clínics i de graus de l'anèmia falciforme. Tots dos casos poden estar afectats pel medi ambient, per la nutrició, per l'estadi socioeconòmic, per agents infecciosos i per la disponibilitat d'accés mèdic. La diversitat fenotípica és més evident en països amb un nombre superior de supervivents degut a un millor accés mèdic i una baixa mortalitat infantil. Hi ha moltes preguntes al voltant de la diversitat de la malaltia que tot just ara estan en procés d'estudi. D'aquesta gran diversitat de casos les formes més comunes d'ACF són:

- **Portadors de l'hemoglobina S:** Són persones que només tenen un dels dos al·lels que determina l'anèmia falciforme. Com que aquesta és una malaltia recessiva són asimptomàtics i tenen un desenvolupament normal. La concentració d'Hb S és baixa (amb un percentatge inferior al 40-50%) i en molts casos el pacient té la mateixa eficàcia que els homozigots d'Hb (AA).
- **Drepanocitosi amb hemoglobina C (SC):** És la substitució d'una lisina per un àcid glutàmic en el mateix codó de la cadena beta que l'Hb S. Aquesta combinació amb

l'Hb S crea una clínica semblant a la de la malaltia falciforme normal, però de menys gravetat. Tot i que l'evolució clínica que pateixen és totalment diferent, es consideren "homozigots" perquè tenen una doble heterozigosis.

- **Nivells d'hemoglobina F:** Els nivells d'HbF varien segons els individus, el 80% ve determinat genèticament. Després de la gran disminució que pateix tothom després dels sis mesos de vida, es perd la protecció que aquesta ens proporciona. Tot i això, aquesta disminució i la quantitat que cada persona en té al ser adult varia molt de l'una a l'altra. L'HbF és més elevada en el sexe femení degut a una relació amb el cromosoma X. L'haplotip Benin té nivells superiors d'HbF comparat amb l'haplotip africà, però l'haplotip àrab-indi en té el doble que l'haplotip Benin.
- **Malalt amb traços d' $\alpha$  talassèmia:** Són pacients amb menor hemòlisi i amb nivells superiors d'Hb. Tenen menys problemes d'hiperviscositat i vasooclusió i un risc de mortalitat menor. El genotip normal és  $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ , però molts africans americans tenen una sola  $\alpha$  i en aquests, la concordança amb l'anèmia falciforme és comuna. La seva importància varia. Una delació en un gen  $\alpha$  té un efecte mínim en els nivells d'HbF però provoca una millor hidratació en les cèl·lules falciformes i anèmia menys severa. Probablement la pèrdua d'un gen  $\alpha$  equilibra la cadena com si fos normal, evitant la inestabilitat que genera el gen  $\beta^S$ .
- **Hb S amb Beta talassèmia:** Produeix una clínica semblant a la de l'anèmia falciforme, que va augmentant de gravetat quan la síntesi d'Hb A és menor. La barreja heterozigòtica de l'al·lel per gen falciforme i un altre  $\beta$  al·lel, pot afectar el fenotip clínic. Tot i això l'HbSC presenta un cas únic causat per l'alta l'electronegativitat de l'HbC comparada amb la de l'HbS. En comptes de desenvolupar les característiques falciformes, la presència d'HbC estimula el transport KCl creant la deshidratació de les cèl·lules i incrementant-hi la concentració d'HbS. Aquest augment crea una malaltia menys severa que l'anèmia falciforme. L'anèmia i el dolor són reduïts, però s'incrementa la retinopatia i l'osteonecrosi. S'ha assumit que això deriva de l'augment de la viscositat sanguínia, que genera una anèmia menys severa. Altres al·lells  $\beta$  poden interactuar amb HbS i afectar el fenotip a través de la polimerització.

- **Diversitat fenotípica inexplicable.** Tot i els estudis fets encara no hi ha explicació per tots els casos de variabilitat de la malaltia. Els processos que participen en l'oclusió de vasos, la vasculopatia (trastorn sanguini) i l'hemòlisis destaquen que la variabilitat fenotípica està influenciada per variacions genètiques. Definitivament, la contribució d'unes quantes influències genètiques no hemoglobíniques es continuarà investigant gràcies a que noves tecnologies estan sent aplicades al problema de la gran diversitat fenotípica de la malaltia. L'Hb S també pot polimeritzar-se amb altres Hb com l'Hb O, l'Hb D, l'Hb C o l'Hb F. Aquests casos poc comuns de la malaltia presenten diferents nivells de gravetat. Els símptomes i complicacions acostumen a ser similars als que pateixen els malats drepanocítics (HbSS).

<b>Principales genotipos asociados a la ECF</b>		
<b>Genotipo</b>	<b>Patrón de Hb</b>	<b>Gravedad clínica</b>
Homocigoto S	S/S	Grave
Doble heterocigoto S/C	S/C	Moderado
Doble heterocigoto S/D	S/D	Grave
Doble heterocigoto S/ $\beta$ 0 talasemia	S/-	Grave
Doble heterocigoto S/ $\beta$ + talasemia	S/A (S>>A)	Moderado
Doble heterocigoto S/delta $\beta$ 0 talasemia	S/-	Moderado
Doble heterocigoto S/X-variante Hb cadena $\beta$ globina	S/X	Leve a grave según HbX
Doble heterocigoto S/Persistencia de la Hb Fetal	S/-	Leve

*Taula 2*

*Biología molecular en el diagnóstico de las hemoglobinopatías.*

### **2.3 EPIDEMIOLOGIA (SELECCIÓ I DISPERSIÓ DEL GEN FALCIFORME)**

Les hemoglobinopaties són les alteracions monogèniques més freqüents del món. S'estima que el 5'2% de la població mundial és portadora d'una alteració de la síntesi d'Hb. Tot i això hi ha una incidència molt variant d'unes regions a unes altres.

Les talassèmies s'estenen en una franja que va des del Mediterrani fins Indonèsia i en una zona petita de l'Àfrica tropical i subtropical. En la beta talassèmia la majoria d'heterozigots apareixen a Itàlia, Grècia, Xipre i a la zona del sud est asiàtic. Els casos d'alfa talassèmia situen les zones amb més afectació a regions tropicals i subtropicals d'Àfrica, Àsia i Oceania.

El cas d'HbS té major prevalença a l'Àfrica tropical i subtropical on els casos inclouen un 20% de la població. Tot i això també és comú a la zona sud-americana.

En el cas de la HbC la major prevalença es concentra a l'oest d'Àfrica. L'alta afectació d'aquestes zones sembla que està relacionada amb la protecció de portadors heterozigots d'aquestes malalties en relació a la malària. De fet existeix una sobre posició de la distribució d'aquestes zones d'alta prevalença de talassèmia i de les zones endèmiques. Els desplaçament de la població mundial, més habituals encara als nostres dies, fan que trastorns que eren molt estranys al nostre país siguin cada vegada més freqüents en la pràctica clínica diària.

L'aparició dels al·lels  $\beta^A$  i  $\beta^B$  alhora, determina que la mutació falciforme va sorgir independentment a les cinc regions. La mutació  $\beta^C$  va sorgir només un cop. Les informacions històriques demostren que el gen  $\beta^S$  es va expandir a Àfrica fa 3000 anys i a Àsia del sud fa 4000 anys degut a l'aparició de les eines de ferro. Les facilitats que va permetre aquest nou descobriment van portar a una adaptació al sistema agricultor; fet que va permetre l'augment de la densitat de la població i va generar condicions favorables per la reproducció del mosquit *Anopheles* que va iniciar el desenvolupament del *Plasmòdium falciparum*. En aquest context, la freqüència de malalts falciformes va augmentar molt degut a diferents maneres d'expressió de la malaltia. A més, ja es va observar que els heterozigots tenien avantatges sobre els homozigots. Els individus amb HbAS (Hb de portadors d'anèmia falciforme) tenien més possibilitats de sobreviure als efectes perjudicials de la malària. El comerç d'esclaus i les guerres van causar l'expansió mundial de la malària i l'anèmia fins a arribar a zones d'Amèrica i la Mediterrània. La distribució de l'anèmia falciforme té molta relació amb la malària. Es creu que el gen falciforme va ser una solució biològica a un problema cultural.

En zones on la malària afectava uniformement els joves, aquesta era la primera causa de mort dels malalts d'anèmia falciforme. Tot i això, aquells que tenien el tret falciforme tenien menys probabilitats de desenvolupar malària. Aquesta protecció del tret falciforme es veu després de la infecció inicial del paràsit. Tot i veure l'anèmia com una solució, els efectes causats per aquesta són tan o més negatius que els causats per la malària. A més la funció protectora de l'HbAS no és funcional si el pacient també té alfa talassèmia. La malària i l'anèmia reflecteixen una complexa interrelació entre el gen determinant dels eritròcits falciformes i factors ambientals.

El gen falciforme es va estendre geogràficament degut al comerç, les migracions, el comerç d'esclaus, la desforestació i l'augment de l'agricultura. Aquesta dispersió s'ha controlat amb anàlisis dels haplotips beta que són un marcador que ens determinen la distribució del gen.

De forma global es pot considerar que es va expandir des de l'haplotip benín cap al nord d'Àfrica i després per la zona mediterrània. Els haplotips africans estan presents a la zona oest de la península Aràbiga però a la zona est el gen és de l'haplotip àrab-indi. En els americans el gen de l'anèmia falciforme és generalment dels haplotips bantu, senegalès i benín.

La malaltia, principalment, es detecta en persones de descendència africana, mediterrània, aràbiga i índia. Als Estats Units aproximadament un de cada 15 africans americans és heterozigòtic per la mutació causant de l'anèmia falciforme i un de cada 400 té la malaltia. La majoria dels malalts amb ACF dels Estats Units són homozigòtics (HbSS) (malalts d'anèmia falciforme); en canvi, a la Mediterrània, la  $\beta$ -talassèmia és la més patida. En algunes zones d'Àfrica la meitat de la població té HbAS.

Un factor de risc destacable, és el fet que a l'Àfrica (zona molt freqüentada per la malaltia), té una cultura endogàmica, fet que augmenta els casos de naixements amb drepanocitosis.



Distribució de la malària al món



## **2.4 FISIOPATOLOGIA (PROCESSOS PATOLÒGICS)**

Les molècules d'hemoglobina dins els globus vermells són com unitats independents (oxihemoglobina i desoxihemoglobina) que fan que tots els eritròcits mantinguin la forma de disc. Les mutacions de l'hemoglobina poden alterar la primera seqüència d'aminoàcids del polipèptid de globina. Aquestes alteracions causen les importants malalties anomenades hemoglobinopaties, entre les quals hi ha l'anèmia de cèl·lules falciformes. En aquest cas, l'hemoglobina anormal (HbS) actua com a unitats independents per agafar l'oxigen però quan l'han de lliurar als teixits tendeixen a unir-se (polimerització) creant la deformació coneguda de la malaltia. Els eritròcits assoleixen una forma falciforme, de falç o mitja lluna. Aquesta estructura els hi impedeix transportar oxigen, però aquests, en tornar als pulmons i perdre l'oxigen que portaven, recuperen la seva estructura normal perquè l'hemoglobina se separa. Tot i això no poden lliurar oxigen als teixits.

L'anèmia de cèl·lules falciformes consisteix en un grup d'hemoglobinopaties caracteritzades per una quantitat anormal de la molècula d'hemoglobina que afecta l'estructura i la integritat dels eritròcits.

L'HbS només es polimeritza quan està desoxigenada, una propietat que només tenen les variants de l'hemoglobina que tenen la substitució de l'àcid glutàmic per la valina. Altres variants d'hemoglobina amb la mateixa característica també són freqüents com l'HbE i l'HbC.

L'HbS és menys soluble que l'hemoglobina normal (HbA) en l'estat de desoxigenació quan es polimeritza, així, les cèl·lules falciformes estan exposades a una situació d'hipòxia en la microcirculació. Inicialment es deia que les cèl·lules falciformes que tenen HbS són menys deformables i es queden atrapades a la microcirculació causant isquèmia (falta d'oxigen als teixits) i necrosis (mort cel·lular). Actualment es dona més importància al rol de l'adhesió cel·lular (adhesió anòmala en resposta a la lesió dels microvasos), als casos d'isquèmia i a l'endoteli anormal. L'HbS també provoca més deformitat i menys flexibilitat a la membrana de les cèl·lules, causant més hemòlisis extravascular. Aquesta pèrdua d'elasticitat és una dada fonamental en la patologia de la malaltia, perquè provoca la mort prematura de les cèl·lules.

L'anèmia de cèl·lules falciformes és coneguda per la seva heterogeneïtat clínica. El gen, que causa una malaltia mendeliana, té una gran variabilitat fenotípica. A més, el fenotip de la malaltia pot estar influenciat per gens modificadors. Aquests gens modificadors canvien la

regulació de l'hemoglobina fetal i la concentració de l'HbS. També se n'ha observat el seu efecte en alguns processos relacionats amb la inflamació, amb l'òxid nítric, en la regulació dels vasos sanguinis, en la interacció de les cèl·lules, en la coagulació de la sang i en l'hemostàsia (conjunt de mecanismes per parar processos hemorràgics).

La concentració de l'HbF varia segons els pacients i els eritròcits de cada individu afectat d'anèmia falciforme. Com que l'HbF (hemoglobina fetal) redueix la concentració d'HbS (hemoglobina falciforme) i inhibeix la seva polimerització, la seva concentració influeix en l'heterogeneïtat cel·lular. La mutació falciforme es troba en diferents haplotips del gen  $\beta$ -globina. Aquest fet s'observa en diferents orígens de la mutació a l'Àfrica i a l'orient mitjà. Aquests haplotips estan associats amb els nivells d'HbF.

L'haplotip senegalès es caracteritza per nivells d'HbF superiors a altres haplotips africans. L'haplotip aràbic-indi reflexa una mutació que es va originar als afores de l'Àfrica i s'associa a nivells d'HbF entre 2 i 5 vegades superiors als africans. En general els pacients amb nivells d'HbF superiors tenen efectes clínics menys severos. L'haplotip bantu, té nivells d'HbF inferiors, això causa més complicacions a la malaltia.

En els malalts d'anèmia falciforme els eritròcits són heterogenis degut a la gran variabilitat de distribució cel·lular, a la concentració d'HbF i als defectes en les membranes. Les cèl·lules falciformes tenen dificultats per mantenir el gradient adequat de potassi, per això s'activen canals de cotransport. Com a resultat d'aquests processos, els eritròcits falciformes varien en la seva densitat i deformabilitat. Les cèl·lules falciformes irreversibles sempre apareixen deformades degut als defectes membranosos permanents. Les persones amb major nombre de cèl·lules falciformes irreversibles i cèl·lules denses tenen més hemòlisis i més anèmia però no necessàriament el major nombre d'episodis d'oclusió dels vasos.

L'hemòlisi és generalment extravascular com a resposta inflamatòria (fagocitosis) perquè la cèl·lula reconeix eritròcits falciformes danyats. També es produeix hemòlisi intravascular i això genera excessives acumulacions d'hemoglobina dins els corrents sanguinis, fet que causa complicacions. Moltes complicacions de la malaltia, estan lligades a la intensitat de les hemòlisis intravasculares. En canvi, altres conseqüències de la mutació van associades a l'alta viscositat de la sang i a la interacció dels eritròcits falciformes i l'endoteli. Les oclusions dels vasos estan totalment relacionades amb l'hemòlisi. Els teixits i òrgans que no reben la quantitat d'oxigen necessària es fan malbé i provoquen les complicacions principals de la malaltia.

Els episodis d'oclusió depenen de fets relacionats amb els eritròcits, com ara el grau de defecte cel·lular, els problemes endotelials...Durant les primeres hores dels episodis dolorosos el número d'eritròcits densos decreix i es recupera a mesura que el mal desapareix. Observant aquest fet, tenim la possibilitat de predir que les cèl·lules més deformables i adherents són les iniciadores dels processos d'oclusió i, en canvi, que les cèl·lules denses són destruïdes a la microvasculatura.

Les cèl·lules endotelials (cèl·lula que recobreix els vasos), responen a molts modificadors biològics que es generen durant els episodis oclusius i processos d'inflamació. La seva activació i dany poden ser causats per adhesions de cèl·lules falciformes. El dany cel·lular permet la interacció entre les cèl·lules falciformes, les cèl·lules endotelials i els leucòcits.

Els reticulòcits que surten prematurament del moll de l'ós faciliten la interacció entre els eritròcits i l'endoteli. Els individus amb major quantitat d'hemòlisis tenen el major nombre de reticulòcits com a resposta al trencament cel·lular, això produeix un augment d'atacs oclusius.

Els neutròfils que són glòbuls blancs controladors de les inflamacions, es troben en un nombre elevat en els pacients que tenen la síndrome agut de pit, priapisme o vessament cerebral. Són pacients amb altes dificultats per sobreviure.

Els pacients amb anèmia falciforme pateixen anèmia hemolítica crònica i episodis d'oclusió de vasos freqüentment. Els episodis d'oclusió són els processos més destacats de la malaltia. Els determinants principals de les oclusions en malalts d'anèmia falciforme són: hipòxia, deshidratació, concentració de les cèl·lules falciformes, quantitats altes d'HbS i alta viscositat sanguínia. Els processos d'oclusió poden estar indicats prèviament per molt afectes clínics, els més coneguts són: deshidratació, canvis de temperatura, estrès quirúrgic, disminució d'oxigen, infeccions i estrès psicològic.

El risc de patir episodis d'oclusió de vasos i la síndrome agut de dolor al pit, estan relacionats amb nivells alts d'hemoglobina i leucòcits i nivells baixos d'HbF. A més aquests factors provoquen altres alteracions en el metabolisme, com complicacions pulmonars, úlceres, priapisme, hipertensió, entre d'altres. Una hipòtesis diu que l'anèmia de cèl·lules falciformes està conduïda per dos mecanismes diferents: d'una banda, els episodis d'oclusió que causen la síndrome del pit i l'oclusió dels vasos i, per l'altra banda, l'anèmia hemolítica que causa els errors a l'endoteli i trastorns crònics en els vasos sanguinis. Tots dos factors són iniciats per la polimerització de l'HbS.

Per tan, l'anèmia és causada per la destrucció prematura o hemòlisis accelerada dels eritròcits. Tot i que la producció d'eritròcits a la medul·la òssia també augmenta, no aconsegueix assolir el grau de la destrucció. La duració mitjana d'un glòbul vermell sà és d'uns 120 dies i la d'un eritròcit falciforme és d'entre 10 i 20 dies.

#### **2.4.1 Anormalitats dels eritròcits falciformes**

Fins i tot les cèl·lules oxigenades falciformes tenen una gran varietat d'anormalitat cel·lular i membranoses. Algunes són la conseqüència de la formació de polímers molt propers, mentre que d'altres són el resultat d'errors bioquímics d'oxidació. Les cèl·lules falciformes mostren una gran heterogeneïtat en diferents característiques cel·lulars. Els diferents valors d'hidratació i els nivells d'HbF són importants.

- **El ferro de la membrana i la generació oxidant**

En el citoplasma de les cèl·lules falciformes hi ha un nivell oxidatiu (quantitat d'oxigen reactiu alta en relació a la capacitat de reparar els danys) anormal. L'oxidació es produeix als mitocondris i és dependent en part, de la quantitat de ferro que té el teixit per satisfer les cèl·lules. Com que el ferro és deficitari en l'ACF, la cadena de proteïnes citoplasmàtiques no és normal i la cèl·lula respon incrementant la síntesi de productes que no són funcionals a l'hora de transportar oxigen als teixits.

D'igual importància que l'excés d'oxidants, la localització de catalitzadors (substància que augmenta la velocitat de reacció) de ferro en la membrana pot presentar un risc per als afectats, perquè genera danys oxidatius (pas d'electrons d'una substància a un compost que rovella) als components de la membrana. La deficiència dels nivells dels antioxidants causada pel consum oxidatiu i la dieta insuficient hi contribueixen. El resultat és l'oxidació anormal de les proteïnes de membrana. Entre la gran quantitat de defectes membranosos hi ha la pèrdua de rigidesa, la formació d'eritròcits falciformes irreversibles, l'homeostasis, la tendència a tapar la microcirulació i com a resultat producció de lesió.

- **Homeostasis de cations i cèl·lules deshidratades**

La concentració d'Hb (MCHC) en els eritròcits normals té una mesura d'uns 32 g/dL mentre que ens eritròcits falciformes pot anar dels 23 als 50 g/dL. Aquesta gran heterogeneïtat de densitat és deguda a la reticulocitosis (augment de glòbuls vermells immadurs).

La pitjor anormalia iònica és la permeabilització de la membrana per als cations. Aquest fet, depèn de la deformació cel·lular i reflexa l'exagerada susceptibilitat a la deformació que els eritròcits falciformes pateixen. La formació de cèl·lules falciformes influeix en la necessitat de calci i generen acidificació en algunes cèl·lules. Això crea una pèrdua de potassi i aigua degut a l'activació lenta del canal de transport sodi-potassi. L'activació retardada d'aquest canal depèn de diversos factors. Des dels primers estadis de cèl·lula falciforme, aquesta ja té nivells elevats de cations de calci.

Aquests problemes creen deshidratació i deformació de les cèl·lules falciformes. Encara no és clar per què la pèrdua ràpida de cations és un mecanisme dominant de la deshidratació dels eritròcits. Els eritròcits deshidratats tenen més facilitat per deformar-se i polimeritzar-se.

- **Deformació, fragilitat i formació de vesícules**

Els eritròcits oxigenats són poc deformables perquè aquesta propietat és causada per l'alta viscositat citoplasmàtica de les cèl·lules deshidratades. En els experiments in vitro s'ha vist que hi ha una correspondència entre l'aparició de polímers que provoquen la modificació de la forma i el deteriorament de la deformació. Altres estudis demostren menys deformabilitat després de canvis morfològics (exterior).

Les cèl·lules falciformes són mecànicament fràgils com a conseqüència de la deshidratació i l'associació d'agrupacions dèbils causades pels danys de les proteïnes oxidatives. La tendència de les cèl·lules falciformes a perdre microvesícules membranoses crea una separació entre la bicapa i l'esquelet de sota.

- **Proteïnes i lípids de membrana**

La funció de les proteïnes de membrana està adversament afectada per l'oxidació del tiol (compost format per un àtom de sofre i un d'hidrogen) i probablement altres modificacions de proteïnes oxidatives.

La funció normal dels fosfolípids de la bicapa és disminuïda en els pacients amb anèmia. Un moviment ràpid, mou els fosfolípids i activa el transit de calci. Hi ha un augment de la presència de lípids a la membrana per intentar controlar el comportament anormal de les funcions membranoses. Com a resposta a aquest estrès també hi ha una pèrdua de cations. Aquesta deformació contribueix a diverses respostes de la malaltia.

- **Cèl·lules falciformes irreversibles**

Les cèl·lules falciformes oxigenades tenen una tendència a l'adhesió de les cèl·lules de l'interior dels vasos. Alguns mètodes per assolir aquesta adhesió són respostes dels eritròcits falciformes cap als factors d'activació del plasma. S'està estudiant la relació d'interaccions de diferents tipus de cèl·lules amb l'endoteli. La majoria dels candidats causants d'aquesta adhesió involucren reticulòcits i alta afinitat. En un context biològic, el flux sanguini és indeterminat. El flux passa pels conductes sanguinis de tots els diàmetres, donant més superfície de contacte a aquells que tenen un diàmetre major. Sembla probable que la baixa afinitat d'adhesió sigui més habitual en els conductes amb poca superfície.

La participació de l'adhesió d'eritròcits funciona depenent de l'estat d'activació endotelial. Hi ha diversos factors estimulants de l'estat de l'endoteli, els quals es troben elevats en pacients amb anèmia falciforme. Tot i això hi ha molts modificadors biològics que poden influenciar el comportament de l'endoteli. Alguns d'aquests factors són el flux sanguini, el diàmetre dels conductes, el nombre de reticulòcits, la interacció de diferents tipus de cèl·lules sanguínies i, fins i tot factors externs com les toxines o el consum de tabac.

- **Interacció de macròfag (tipus de leucòcit)**

Els eritròcits falciformes reben freqüentment fagocitosis degut a les modificacions de la membrana. El procés que la genera és desencadenat per una agrupació anormal de proteïnes de membrana. Les cèl·lules més denses tenen més immunoglobulina a la superfície i una interacció superior amb els macròfags.



## **2.5 ETIPATOGENIA**

La transmissió de la drepanocitosis és com un cas d'herència autosòmica recessiva normal. El gen que determina el fenotip està situat a un cromosoma no determinant del sexe, per tant té les mateixes probabilitats de tenir-la un home que una dona.

Als pacients que tenen l'al·lel falciforme acompanyat d'un al·lel dominant no se'ls manifestarà el caràcter. Per tal que el caràcter es manifesti és necessari que el malalt sigui homozigot, per tant, que rebí un al·lel determinant de la drepanocitosis per par de cada progenitor. Així doncs, una persona malalta (SS) té els dos pares portadors.

Els homozigots amb dos gens anormals no sintetitzen HbA i els seus hematies contenen entre un 90 i un 100% d'Hb S. Els heterozigots o portadors del caràcter falciforme que tenen un gen normal tenen hematies amb un 20-40% d'HbS i no pateixen la malaltia.

Els portadors del caràcter falciforme acostumen a tenir una vida normal sense cap símptoma. Només se'ls recomana el consell genètic .

### **2.5.1 Probabilitat d'heretar una ACF**

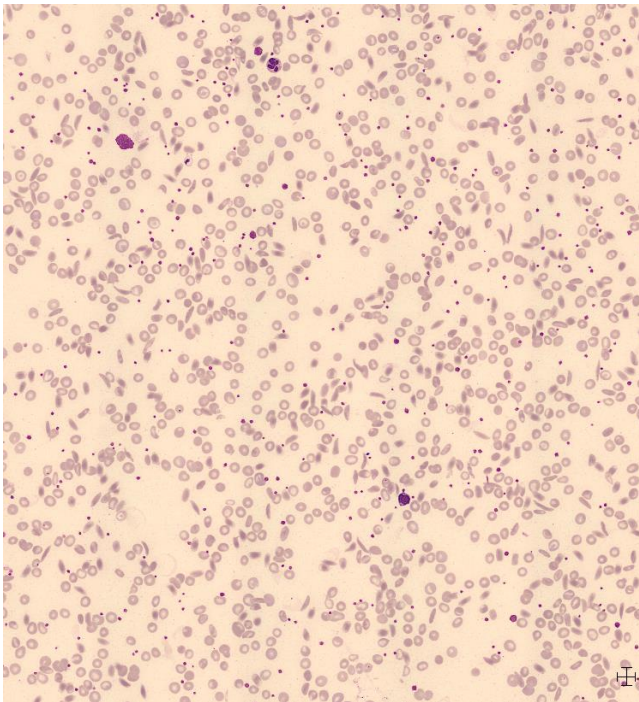
Les probabilitats de tenir un descendent amb ACF són del 25%, si els dos progenitors són portadors, però són del 0% si només un dels dos progenitors és portador i l'altre és sa, perquè és una malaltia recessiva. Per això és molt important el consell genètic, si hi ha antecedents que puguin indicar que els pares són progenitors.

## 2.6 CITOLOGIA

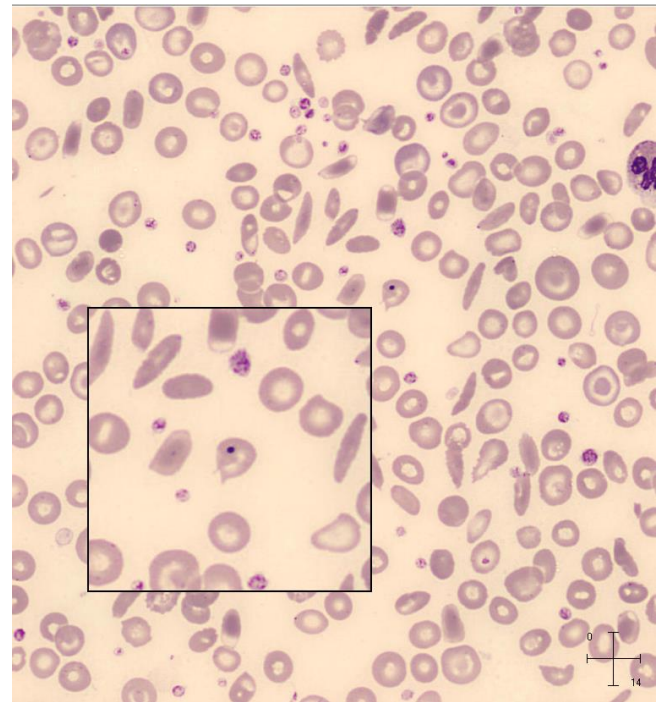
L'estructura i la funció de la cèl·lula es veuen clarament alterats en els eritròcits falciformes. La forma de falç que adopten els eritròcits és molt característica de la malaltia i es veu a simple vista. Visualment són cèl·lules allargades amb les puntes punxegudes i corbes. És una característica que determina aquesta malaltia i no es veu en altres hemoglobinopaties.

Quan els pacients pateixen crisis, es veuen molt més clars els eritròcits en forma falciforme.

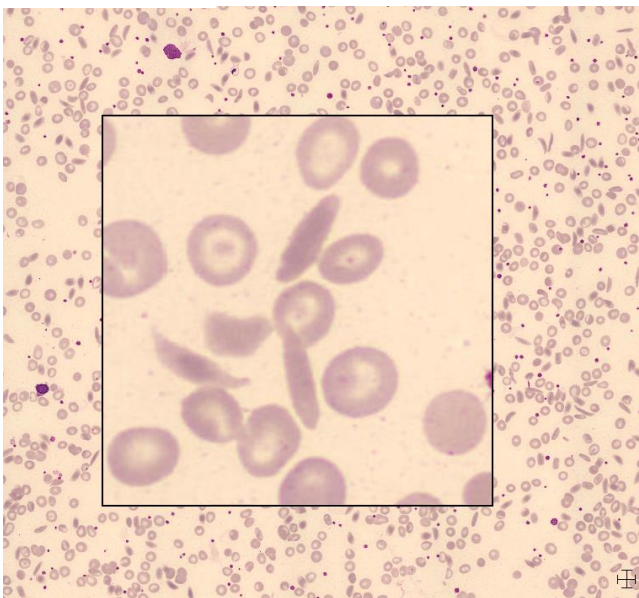
Els hematies no falciformes de les persones amb anèmia falciforme perden la forma de disc bicòncav i la majoria presenten un buit al seu interior com podem observar a l'ampliació de la imatge 4.



*Imatge 2*



*Imatge 3*



*Imatge 4*

Casos d'anèmia falciforme vists al microscopi

## 2.7 CLÍNICA

L'anèmia de cèl·lules falciformes és un fenotip que deriva de diversos genotips. La majoria dels pacients tenen anèmia de cèl·lules falciformes, la malaltia de l'HbSC o HbS- $\beta$ -talassèmia. Diversos factors genètics i epigenètics afecten els fenotips dels malalts d'anèmia falciforme. En la majoria de casos el nivell elevat d'HbF és positiu. Degut a això els nadons malalts són asimptomàtics, perquè l'Hb fetal evita la formació de l'HbS. Les primeres manifestacions clíniques apareixen entre els 4 i 6 mesos de vida. Tot i això les complicacions de la malaltia les trobem a tots els genotips, però els efectes clínics més greus es troben als genotips amb concentracions altes d'HbS. Els portadors de la malaltia tenen anormalitats subtils o no en tenen i una esperança de vida normal.

Les característiques de la malaltia canvien a mesura que la vida avança. El canvi d'HbF a HbS és un període amb problemes aguts com infeccions, la síndrome del pit i vessaments. El dany crònic d'òrgans és un factor coincident en tots els adults.

La majoria dels malalts amb anèmia de cèl·lules falciformes tenen anèmia moderada i l'hematòcrit entre el 25 i el 30%. Alguns pacients tenen més hemòlisis i un hematòcrit de menys del 20% distingit per un nombre elevat de reticulòcits. L' $\alpha$ -talassèmia és present en el 30% dels pacients amb anèmia falciforme i està associada amb nivells elevats d'hemoglobina, baix MCV i pocs casos d'hemòlisis. Aquests casos tenen menys possibilitats de patir úlceres a la cama i accidents cerebrals però acostumen a patir més episodis d'oclusió de vasos i síndrome de dolor al pit degut a la viscositat augmentada de la sang relacionada amb l'alt nivell d'hemoglobina. Els pacients amb hemòlisis més profunda freqüenten més els vessaments cerebrals, la hipertensió pulmonar, el priapisme i les úlceres. Molts pacients amb la malaltia d'HbSC, concretament homes grans, tenen gairebé l'hematòcrit normal i tenen la viscositat sanguínia augmentada.

Els símptomes habituals de l'anèmia, com la feblesa o els problemes respiratoris, no són els característics de l'anèmia falciforme. Tot i això, la concentració d'hemoglobina pot ser un indicador del pronòstic per a algunes complicacions.

Una conseqüència de l'hemòlisis és l'augment del pigment biliar (produït pel fetge). Com a resultat, més de la meitat dels adults pateixen litiasis biliar (pedres al fetge).

L'anèmia hemolítica relaciona els pacients amb el desenvolupament d'una anèmia aguda quan la eritropoesi està temporalment interrompuda per una infecció, fet que genera les crisis aplàstiques (inhibició temporal de la producció d'eritròcits). És el procés habitual i ràpid més comú en els nens petits i habitualment requereix transfusions sanguínies per mantenir el circuit sanguini fins que una recuperació espontània apareix.

La majoria de les complicacions de la malaltia es tracten amb hidroxiurea en els adults i se n'està augmentant l'ús també en nens que encara no han desenvolupat complicacions de la malaltia.

Tot i que totes les complicacions poden patir-se en qualsevol edat, algunes dificultats acostumen a sorgir a edats determinades. Quan hi ha absència de tractament amb hidroxiurea o amb transfusions, les primeres dècades de vida es caracteritzen per episodis de dolor agut, síndrome del pit i vessaments. El retard del creixement i del desenvolupament sexual també són més característics de l'anèmia falciforme que dels pacients amb HbSC. Els problemes psicosocials són habituals en pacients adolescents amb anèmia falciforme. Les dificultats en els processos mèdics acostumen a ser presents en els adolescents degut a la dificultat de control del dolor i a la impaciència.

### **2.7.1- Síntomes i Signes**

#### **Episodi dolorós**

El dolor s'acostuma a iniciar amb atacs d'oclusió de vasos, en els malalts d'anèmia falciforme. El patiment s'inicia des de petits amb la síndrome de les mans i els peus durant els quals els malalts pateixen fort dolor als ossos d'aquestes extremitats degut a una inflamació. Els episodis dolorosos són comuns en pacients de totes les edats, però el seu inici és desconegut. Aquestes episodies poden durar des d'hores fins a dies i poden canviar d'intensitat i de zona. Actualment encara no hi ha tests que demostrin per què un atac oclusiu de dolor està succeint.

El dolor dels malalts d'anèmia falciforme està descrit com a pitjor que un dolor post operatiu o traumàtic. Algunes dones descriuen aquest mal com el mateix de parir un nen. Aquests atacs dolorosos s'han de diferenciar del mal crònic que pateixen els pacients afectats, degut a osteoporosis, necrosis i dolor, que normalment són constants diàriament.

Tots els pacients pateixen episodis aguts de dolor però varien en nombre i freqüència depenent de cada cas. Els pacients generalment coneixen si el dolor que estan esperant és diferent que el dolor típic que pateixen i això és un indicador que patiran un atac agut en poc temps.

En diferents estudis que s'han fet sobre l'extensió de l'ús de la hidroxiurea, el 40% dels pacients tractats amb aquesta droga no pateixen dolor que requereix hospitalització, durant un any, mentre que el 3% té més de sis episodis dolorosos l'any. Tenir més de tres episodis l'any que requereixen hospitalització prediu un fort augment de la mortalitat en pacients de més de 20 anys.

Alguns estudis que parlen del dolor crònic mostren que aquest patiment és present en les vides dels malalts la meitat dels dies i que, la majoria d'atacs de dolor lleu, són controlats a les cases pel propi malalt. La majoria d'investigacions mostres que els nivells d'HbF estan relacionats inversament amb el nombre d'episodis dolorosos.

Algunes vegades el dolor es pot confondre amb episodis de dolor no complicats. Els episodis dolorosos aguts habitualment prediuen una futur síndrome aguda de pit en un període de temps d'entre 24 i 72 hores. La mort inesperada pot passar durant els episodis de dolor agut, degut a arítmies com a conseqüència de danys miocardiàcs irreconeixibles o hipertensió pulmonar. És a dir, que no es pot predir quan un atac agut de dolor acabarà amb una mort inesperada.

### **Color groguenc a la pell, els ulls i la mucosa bucal**

És una complicació causada per la bilirubina, que és una substància de rebuig que apareix quan els glòbuls vermells es destrueixen. En casos normal el fetge metabolitza la bilirubina. En pacients amb ACF, hi ha una producció massa elevada de bilirubina i el fetge és incapaç d'eliminar-la. La circulació de bilirubina és la que provoca la pigmentació groguenca.

### **Línia base o estat normal de resultats hematològics**

L'hemòlisi crònica, tan intravascular com extravascular, provoca una anèmia crònica. L'anèmia de cèl·lules falciformes generalment és normocítica amb anisocitosis (cèl·lules de diferents formes) i eritrocitosi (augment anormal del nombre de glòbuls vermells). Es caracteritza per tenir moltes cèl·lules petites deshidratades irreversibles anomenades

falciformes, molts reticulòcits i esquistòcits (fragments resultants de la ruptura d'eritròcit). L'aparició de reticulòcits és comuna i la d'eritròcits nucleats falciformes, també. Els neutròfils també són habituals i són un signe de pronòstic de futura síndrome aguda de pit, en adults, i freqüents atacs oclusius, en nens.

Alguns estudis demostren que els leucòcits no són només un indicador de l'activitat de la malaltia sinó que també tenen una relació directa amb l'adhesió cel·lular i els atacs oclusius.

### **Anèmia aguda**

L'anèmia aguda pot aparèixer degut a una retenció sanguínia a la melsa o al fetge. Pot ser causada també per una infecció, per un atac oclusiu greu o per un error multiorgànic. Les transfusions hi són necessàries.

### **La síndrome de la mà i el peu**

És el primer símptoma d'anèmia falciforme que es detecta en nadons. Es presenta abans dels primer any de vida. Els vasos sanguinis petits de la mà i del peu tenen insuficiència d'oxigen i apareix dolor i inflamació a la zona. L'edema (inflamació) apareix generalment al dors de les mans i als peus, però també es pot estendre pels dits.

### **2.7.2- Complicacions clíniques**

#### **Oftalmologia**

Les anormalitats a la retina són habituals en els pacients amb anèmia falciforme. Generalment són asimptomàtiques fins al moment que apareixen les urgències oftalmològiques. Els pacients amb HbSC són més propensos a patir complicacions de retina. S'observa una possible relació entre aquest fet i l'augmentada viscositat de la sang que pateixen aquests pacients. Causes com el desprendiment de retina o l'hemorràgia vítria poden portar als malalts a una pèrdua de vista. Els anàlisi oculars estan recomanats pels pacients malalts, sobretot els que pateixen HbSC per tal de poder guiar un possible tractament amb làser per evitar lesions oculars greus.

#### **Sobrecàrrega de ferro**

L'hemosiderosi és la complicació més important causada per la teràpia de transfusions en els malalts d'anèmia falciforme. Està caracteritzat per la dipositació de ferro al cor, al



fetge i a les glàndules endocrines. Aquest fet es desenvolupa en errors simultanis de diferents òrgans i augmenta molt el risc de mortalitat. Apareix comunament en pacients que han rebut moltes transfusions. La biòpsia del fetge és el diagnòstic més efectiu per determinar aquesta conseqüència, però és un procés incòmode i molest. Altres mètodes de diagnòstic més pràctics no estan sempre disponibles i degut això molts cops el diagnòstic es basa en controlar si hi ha nivells elevats de ferritina i transferrina (proteïnes).

### **Al·loimmunització dels eritròcits**

L'al·loimmunització (desenvolupament dels anticossos no corresponents als antígens) és una complicació comuna en pacients que utilitzen la teràpia de transfusions; ho pateixen el 30% d'aquests. L'al·loimmunització provoca retards en les reaccions de les transfusions. Els al·loantígens que són indetectables en testos, tenen el potencial d'acabar creant futurs resultats falsos. Els pacients que pateixen al·loimmunització suporten crisis hemolítiques en les quals hi ha una gran hemòlisis entre eritròcits transferits i eritròcits falciformes i també anèmia aguda. El tractament per les crisis hemolítiques són agents estimuladors de l'eritropoesi, esteroides i immunoglobulines intravenoses (anticòs).

### **Pneumologia**

Un conjunt important de pacients que pateixen episodis oclusius també desenvolupen el síndrome agut del pit, la complicació pulmonar més important en els malalts d'anèmia falciforme.

El síndrome agut de pit, és un síndrome que crea una lesió pulmonar i està definit per febre, dolor al pit, baix nivell d'oxigen en sang i teixits, dificultat en la respiració i tot això associat a episodis oclusius aguts, infarts i embòlies. Aquesta complicació afecta més de la meitat de malalts d'anèmia falciforme i habitualment apareix pocs dies després de l'hospitalització i moltes vegades es diagnostica erròniament com una pulmonia. També es desenvolupa habitualment en la fase post operativa. Tot i que el síndrome de pit normalment va acompanyat de pulmonia, és important distingir-ho ja que el síndrome de pit requereix un tractament amb transfusions sanguínies i antibiòtic. Aquesta complicació és més freqüent en nens, però també és habitual en adults i molt més severa.

El bloqueig d'una de les artèries pulmonars ( embòlia pulmonar), i com a conseqüència l'infart, també són conseqüències habituals en els pacients malalts, succeeix a un 17% dels malalts.

Entre el 5 i el 10% del pacients amb anèmia falciforme desenvolupen hipertensió pulmonar. És una de les complicacions de l'anèmia de cèl·lules falciformes i està associada amb una alta mortalitat. Una baixa quantitat d'hemoglobina, ésser edat adulta, úlceres a la cama, mal funció del fetge, sobrecàrrega de ferro i errors renals són factors de risc que poden acabar originant la hipertensió pulmonar. Les alteracions en la dinàmica cardíaca són habituals i estan associades a una mortalitat molt elevada. La presència tant d'una complicació com de totes dues, genera un escampament dels problemes vasculars (conductes sanguínies) i per tant un augment del risc de mort.

## **Neurologia**

Una complicació important dels malalts d'anèmia falciforme que és comuna i apareix en edats no reduïdes són les lesions cardiovasculars que provoquen infarts silenciosos, vessaments cerebrals o l'oclusió de conductes sanguinis importants.

Els vessaments cerebrals en adults estan relacionats amb el trencament de vasos sanguinis a causa de la dilatació i estan associats amb una mortalitat de més d'un 20%. Durant l'era anterior a l'ús de les transfusions i la hidroxiurea el nombre de vessaments era molt elevat però actualment ha disminuït gràcies a aquests mètodes.

L'anèmia aguda, el síndrome del dolor al pit i l'elevada pressió sanguínia són factors associats amb vessaments cerebrals causats per manca d'oxigen; en canvi un nombre elevat de leucòcits està associat a vessaments hemorràgics.

Els pacients amb  $\alpha$ -talassèmia no acostumen a patir vessaments ja que tenen menys hemòlisis i un nivell d'hematòcrit més elevat.

Els infarts silenciosos són encara més comuns que els vessaments i estan associats a pacients amb problemes intel·lectuals i desenvolupament retardat.

Els accidents vasculars cerebrals són comuns en els malats d'anèmia falciforme i tenen la major incidència entre els dos i els cinc anys. Aquests accidents són causats per oclusions dels conductes sanguinis o per previs infarts silenciosos sense símptomes. Les causes dels vessaments tenen una relació amb factors genètics i amb el desequilibri entre la demanda i el subministrament d'oxigen.

Diversos estudis han mostrat que els factors que augmenten el risc de patir vessaments en adults són: anèmia aguda, hipertensió, sexe masculí i edat creixent. Els pacients que



desenvolupen vessaments repetits, estan predisposats a patir hemorràgies cerebrals més endavant. La major freqüència d'hemorràgies cerebrals apareix en pacients de més de vint anys d'edat.

Tan els nens com els adults amb anèmia falciforme poden desenvolupar retard en el coneixement, accelerat envelliment cerebral i demència vascular. El nivell d'hematòcrit baix és un predictor de futures disfuncions neuronals. Aquestes complicacions probablement són causades degut a l'anòxia (falta d'oxigen en teixits).

### **Aplàsia transitòria eritroide**

És la producció molt baixa de glòbuls vermells a nivell medul·lar. Es basa en una disminució brusa de l'hemoglobina que pot arribar fins a 1 gram i una alta reticulocitopenia. El nombre de leucòcits i plaquetes són normals.

### **Osteonecrosis i malalties d'ossos**

La necrosis (mort patològica cel·lular) de les articulacions del maluc i l'espatlla afecta gairebé la meitat del pacients amb anèmia falciforme. L'inici és lent però progressiu i molts pacients pateixen un col·lapse femoral amb només dos anys. La necrosis del maluc generalment està manifestada per dolor a la zona de l'articulació. Els pacients amb l'hematòcrit més elevat, freqüenten més la osteonecrosis. Aquesta pot ser detectada molt aviat amb una ressonància magnètica, però només és visible en radiografies habituals quan la necrosis és més severa.

La inflamació dels teixits habitualment és difícil de distingir de la isquèmia d'os (mort de les cèl·lules del teixit). Aquesta inflamació és causada normalment per un microbi, en el cas dels pacients amb anèmia falciforme la salmonel·la és un cas particular que la produeix.

### **Malaltia Infecciosa**

Degut a que els pacients amb anèmia falciforme tenen asplènia (manca del bon funcionament de la melsa) aviat, són més susceptibles a les infeccions de bacteris encapsulats. La mortalitat pediàtrica elevada degut a sèpsies infeccioses era molt comuna abans del 1986 quan es va demostrar l'efectivitat de la penicil·lina en aquests casos. El creixement de la mida de la cèl·lula i alhora la mala funció d'aquesta són símptomes comuns que apareixen en els malalts d'Àfrica relacionats amb la malària.

Les infeccions virals amb virus de la medul·la òssia porten els pacients al risc de patir l'eliminació de la medul·la.

La prevenció d'infeccions és el motiu de les proves als recent nascuts amb anèmia falciforme i de l'ús de penicil·lina oral en els afectats. Vacunes antiinfeccioses també es recomanen.

### **Nefrologia**

La hipostenúria (eliminació d'orina poc concentrada) apareix en gairebé tots els pacients amb anèmia falciforme. Clínicament la pèrdua de l'habilitat de contracció de la sortida d'orina no és important. Els problemes renals comencen aviat a la vida dels pacients i augmenten durant els anys. Aquests errors s'acostumen a manifestar entre l'edat de 23 i 50 anys. Els pacients amb anèmia falciforme de més de 40 anys, un 40% tenen proteïnúria (quantitat elevada de proteïnes a l'orina) i un 30% insuficiència renal. Aquests pacients que pateixen errors renals tenen un diagnòstic de vida de quatre anys fins i tot fent diàlisis.

### **Priapisme**

El priapisme és la complicació genital més important en pacients amb el genotip HbSS. És una erecció dolorosa i constant causada sense estimulació sexual, provocada per l'oclusió del conducte de retorn sanguini del penis. Es defineix com a lleu si dura entre alguns minuts i menys de tres hores; si la seva duració és superior a tres hores llavors és greu. Es necessiten proves d'urologia urgents. Com més s'espera, més ric hi ha de quedar-se en un estat permanent de fibrosis i impotència.

Un síndrome neurològic estrany conegut com ASPEN s'ha descobert en els pacients amb priapisme que han rebut una gran quantitat de transfusions sanguínies. Està caracteritzat per mal de cap i moments sobtats d'augment d'activitat elèctrica al cervell que es poden acabar desenvolupant com a pèrdues de consciència.

Un tractament anomenat “desviació del penis” només s'utilitza com a última solució per prevenir futurs episodis repetits de priapisme. D'aquesta complicació sempre en resulta la impotència i el procés pot acabar amb una pròtesis de penis.

### **Úlceres a les cames**

Les úlceres apareixen entre el 10 i el 20% dels malalts d'anèmia falciforme i estan associades a un nivell hemolític elevat. Les úlceres petites i superficials s'acostumen a

curar amb un tractament higiènic local. El control d'infeccions i inflamacions és la part fonamental del tractament. En canvi, les úlceres profundes i extenses, poden requerir grans dosis d'analgèsics i poden acabar amb la recomanació de cirurgia vascular amb l'objectiu d'evitar problemes vasculars locals que poden complicar el control de les úlceres.

Inicialment es creia que l'ús d' hidroxiurea augmentava el risc de patir úlceres, però actualment s'ha comprovat que no és així en els pacients amb anèmia falciforme. Tot i això la hidroxiurea el que provoca és l'alentiment de la curació de les ferides. Els tractaments a través de transfusions es presenten beneficiosos per les úlceres, però les evidències no són conclusives.

### **Complicacions cardiovasculars**

Els problemes cardiològics relacionats amb l'anèmia falciforme són complexos i tots ells estan associats amb la sobrefunció dels cor i la pressió normal o alterada de la sang.

Els malalts d'anèmia falciforme habitualment tenen els nivells de pressió en un rang normal o una mica elevat en comparació amb altres malalts amb anèmia. A vegades pateixen hipertensió relativa que determina dany en les cèl·lules endotelials i augmenta l'NO. Quan la pressió sanguínia augmenta, hi ha més possibilitats de patir vessaments cerebrals i la supervivència és més complicada.

La simulació d'infart, s'observa rarament en els casos d'anèmia falciforme, tot i això els pacients tenen fort dolor al pit durant els episodis d'oclusió. En aquests casos es recomana seguir el tractament del síndrome agut de pit.

Els pacients que pateixen la malaltia vascular pulmonar i evidències de disfunció distòlica (alteració en el ritme del bateg cardíac) tenen un alt risc de mort.

La disfunció cardíaca és una complicació tardana i la major causa de mort en els pacients amb els nivells de ferro sobrecarregats. Errors en el funcionament del cor i defectes dels conductes són les anormalitats més comunes. També és habitual l'aparició d'arítmies i mort sobtada. Per això, són recomanats electrocardiogrames freqüents en pacients amb hipertensió pulmonar i dosis de ferro elevades.

Degut a que no hi ha estudis de la hipertensió causada per l'anèmia falciforme, la teràpia antihipertensió habitual és la que s'hi aplica.

## **Embaràs**

No hi ha cap mena de contraindicació per el possible embaràs de pacients amb anèmia falciforme i la fertilitat generalment és normal. Tots els mètodes anticonceptius poden ser utilitzats i seran eficaços.

Habitualment es classifiquen com embarassos d'alt risc, però una bona feina de l'hematòleg es desenvolupa en bons resultats. Un inconvenient comú és que els bebès neixen amb menys pes del que és normal.

## **Gastroenterologia (malalties digestives)**

Les nàusees, els vòmits i la indigestió són conseqüències comunes degudes als tractaments en malalts d'anèmia falciforme. Els opioïdes són responsables de fortes nàusees mentre que d'altres tractaments com la hidroxiurea generen ocasionalment símptomes crònics.

El fetge també pot estar afectat per crisis hepàtiques o mal funcionament. Aquestes complicacions poden estar relacionades amb pedres d'origen hepàtic, hepatitis, cirrosis (destrucció de les cèl·lules del fetge), hipòxia, infarts i nivells de ferro elevats. Els nivells de bilirubina (producte de la degradació dels eritròcits) acostumen a pujar molt. Això és un pronòstic negatiu que indica errors del fetge. L'hepatitis C té més freqüència en els malalts que en la majoria de la població.

Les teràpies de suport i les transfusions d'intercanvi són recomanades abans que les transfusions simples en els pacients amb complicacions durant els atacs oclusius.

La diarrea també és un efecte secundari comú en els pacients tractats amb deferasirox (tipus de fàrmac).

La colelitiasis (pedres a la bufeta biliar) és una conseqüència de la producció accelerada de bilis. És característica de l'anèmia hemolítica i pot afectar la primera dècada de vida i més de la meitat dels adults ho pateixen. L'ultrasonografia (ús d'ones sonores) és el millor mètode per detectar les pedres.

## **Segrest esplènic**

És el creixement progressiu i massiu de la melsa degut a l'acumulació de molta sang al seu interior. Produeix dolor abdominal, nàusees i vòmits. Acostuma a aparèixer durant el

primer any d'edat. Com a conseqüència l'Hb pot caure bruscament i acabar provocant la mort.

### **Activació hemostàtica i trombosis**

Molts estudis demostren que les coagulacions sanguínies arterials (trombosis) són comunes en els malats d'anèmia falciforme. Aquestes acostumen a provocar embòlies pulmonars, trombosis pulmonar i hemorràgies. En els pacients afectats, alteracions en el sistema hemostàtic (conjunt de mecanismes per aturar les hemorràgies) són habituals. Durant els atacs de vasos oclusius, el sistema hemostàtic actua més àmpliament ja que s'ha demostrat que augmenten els casos de trombosis en comparació amb les persones d'estat normal.

### **Crisis hiperhemolítiques**

Són conseqüències causades per l'alta hemòlisis. Tenen molta relació amb les infeccions i alguns medicaments. També poden aparèixer durant atacs vasooclusius degut a l'augment de la destrucció de glòbuls vermells.

### **Atacs vasooclusius**

Durant els atacs oclusius, l'hemoglobina descendeix degut a la hemòlisis i els eritròcits falciformes són visibles en el frotis perifèric (anàlisi de la sang). Els diferents marcadors de l'hemòlisis, com la bilirubina, són elevats en l'estat normal i encara augmenten més els seus valors durant les oclusions. Els nivells d'haptoglobina (proteïna que està disminuïda en estats d'hemòlisi degut al consum i al trencament dels hematies) estan disminuïts en els pacients amb anèmia falciforme i gairebé no són mesurables en estat normal. En els pacients amb HbSC, l'origen dels atacs d'oclusió de vasos és l'alta viscositat de la sang. En aquests pacients l'empitjorament de la hemòlisis no es veu ràpidament.

Les crisis de retenció en els vasos de la melsa esdevenen generalment durant la infantesa i es caracteritzen per una anèmia desproporcionada en comparació amb els nivells d'hemòlisis i reticulosis. Els episodis repetits de retenció sanguínia de vasos de la melsa generalment es desenvolupen amb un augment de la mida de la melsa i un mal funcionament d'aquesta.

Durant els atacs oclusius aguts, els infarts de la medul·la òssia també poden aparèixer. Durant aquests període els testos mostren eritroblasts (hematies immadurs en sang perifèrica) amb neutròfils immadurs i eritròcits falciformes nucleats. L'infart de medul·la òssia pot portar a errors de multiòrgans. Sol indicar la mort propera.

### **2.7.3- Factors de risc**

Hi ha fets que augmenten els riscos de patir aquestes complicacions, com per exemple els canvis meteorològics molt extrems, l'esforç físic o la deshidratació. Els anticonceptius hormonals poden augmentar el risc de trombosi, i els mals hàbits com són una mala dieta, fumar, consumir alcohol o dur una vida sedentària, poden agreujar les complicacions.

## **2.8 DIAGNÒSTIC**

Ens enfoquem en el diagnòstic d'aquesta malaltia quan la nostra mostra, en un hemograma presenta un cas amb anèmia hemolítica (amb nombre de reticulòcits elevat) i volum corpuscular mitjà (VCM) normal o disminuït. És a dir, estem parlant d'un cas d'anèmia regenerativa.

L'aparició d'anèmia hemolítica, normocítica, microcítica o macrocítica i una història clínica compatible prediuen la presència d'anèmia falciforme. Tot i això, degut a la quantitat de diferents genotips i l'heterogeneïtat dels casos clínics, els casos més lleus poden no ser diagnosticats durant anys.

El diagnòstic de l'anèmia falciforme es basa en l'electroforesi de l'hemoglobina o en les cromatografies líquides (HPLC) que són mètodes que permeten la detecció de la majoria de les variants de l'hemoglobina.

### **2.8.1 Elements estudiats durant el diagnòstic**

- La sang

En l'anèmia de cèl·lules falciformes, els eritròcits són normocítics (mida normal) o macrocítics (mida augmentada). Això depenent del nombre de reticulòcits. La microcitosis (mida reduïda) generalment s'observa durant els primers anys de vida del pacient, quan la deficiència del ferro s'ha desenvolupat. Les cèl·lules falciformes generalment són visibles en els testos d'extensió de la sang sobre un vidre, però no sempre. En l'HbSC les cèl·lules en forma de diana són abundants. El nombre d'eritròcits falciformes es manté bastant constant amb el temps i la seva presència no prediu quan el pacient està a punt de patir un atac oclusiu o alguna altra complicació.

- Composició d'hemoglobina de la sang

Després d'un any de vida, l'hemoglobina és suficientment estable per utilitzar-la en el diagnòstic, però els alts nivells de concentració d'HbF, típics de la infància a vegades dificulten la interpretació dels resultats de l'anàlisi d'hemoglobina. En els pacients amb anèmia falciforme (sense tenir en compte els casos infantils), l'HbS ocupa un 80% de

l'hemoglobina. L'HbS es detecta per cromatografia tant amb adults com en recent nascuts. Aquest mètode dona una excel·lent resolució, permet obtenir resultats quantitius i està automatitzat. Els nivells d'HbF en adults van d'entre l'1 fins al 20%. Els mètodes de detecció per DNA per detectar HbS són eficaços, però generalment no necessaris. Tot i això, en alguns casos complicats són necessaris per tal de donar al pacient consells genètics.

- Estudis familiars:

Les hemoglobinopaties s'hereten com a casos de codominància i això implica que, tant l'al·lel normal com el mutant, són expressats i fàcilment detectables. Malgrat això, el fenotip d'anèmia falciforme només és present en homozigots per l'HbS i en alguns heterozigots per HbSC. Els estudis familiar poden suggerir el genotip de l'hemoglobina dels pacients.

- Testos a recent nascuts

Els nens amb anèmia falciforme tenen una susceptibilitat elevada pels bacteris, que poden atacar-los des de pocs mesos de vida. Aquests bacteris provoquen un nivell de mort de bebès del 30%. Les crisis agudes d'oclusió de vasos de la melsa també provoquen una alta mortalitat en la infància. Els diagnòstics de naixement i la immediata entrada en programes de vigilància intensiva, poden permetre a nens que potser no haurien viscut, de sobreviure. Per tant, aquest mètode disminueix la mortalitat i augmenta la supervivència de nadons. Actualment els testos per bebès es duen a terme en els 50 estats dels Estats Units, i també a la majoria de països desenvolupats.

- Diagnòstic tardà i no diagnòstic

Els pacients que van néixer abans de la implantació mundial dels testos de recent nascuts acostumen a patir un diagnòstic tardà, durant la seva vida. Aquest també és el cas particular dels pacients amb HbSC que tenen hemoglobina normal, i hematòcrit normal, però el fenotip erroni. En alguns casos concrets la malaltia queda no diagnosticada i es confon amb deficiència de ferro.



## **2.8.2 Tècniques de diagnòstic i procés de classificació d'anèmies**

Quan ens trobem davant d'un cas amb símptomes de possible anèmia, hem d'utilitzar les següents tècniques, per tal d'obtenir resultats que ens permetin situar el pacient entre els diferents grups, a fi de poder-li donar el pronòstic i el tractament adequats.

### **2.8.2.1 Hemograma**

L'Hematimetria és la ciència de laboratori associada a l'estudi i mesura quantitativa i qualitativa dels elements de la sang. La seva determinació bàsica és l'Hemograma, exploració bàsica utilitzada en qualsevol servei d'anàlisi clíniques (de rutina i d'urgències) que permet detectar alteracions quantitatives i qualitatives de les cèl·lules sanguínies. Les mostres extretes es poden conservar a temperatura ambient si la valoració es realitza durant les 8 primeres hores d'extracció de la mostra. Si no es així, és necessària la seva refrigeració. S'han de llençar si fa més de 36 h que s'han extret, a causa de la degradació dels elements cel·lulars in vitro.

Els analitzadors emeten un preinforme amb les dades quantitatives i qualitatives de la mostra analitzada, seguint els criteris i recomanacions científiques per cada grup de patologia que s'ha d'estudiar; així doncs, podem detectar alteracions numèriques (escreix o dèficit de cèl·lules) o bé alteracions qualitatives (cèl·lules més grans o més petites, amb més cromatina o immadures).Quan l'autoanalitzador detecta una cèl·lula anòmala emet una alarma morfològica quantitativa que pot fer referència a:

- Cèl·lules grans immadures (LIC)
- Limfòcits anormals (ALY)
- Cèl·lules grans no tenyides

Quan al laboratori es detecten canvis en el número de les línies cel·lulars analitzades o bé detecten alguna alarma pel que fa la seva forma o maduresa, podem estar davant de diferents grups patològics: anèmia-poliglobulia (línia eritroide); leucocitosi-leucopènia (línia leucocitària) o trombopènia-trombocitosi (línia plaquetar).

Les gestants pateixen canvis hematològics, que s'han de tenir en compte per no cometre errors. Aquests valors tornen a la normalitat després de 6-8 setmanes del part.

## Índex eritrocitaris de Wintrobe (criteris de revisió)

Els paràmetres hematològics que s'analitzen generalment amb l'hemograma són:

Número d'hematies

Concentració d'hemoglobina (Hb)

Hematòcrit (Hct)

Volum corpuscular mitjà (VCM)

Hemoglobina corpuscular mitjana (CHCM)

Amplitud de distribució eritrocitària (ADE)

Coefficient de variació del volum eritrocitari (RDW)

Número de leucòcits. Fórmula leucocitària

Recompte de plaquetes amb el seu volum plaquetari mitjà

**Tabla 2. Parámetros eritrocitarios: media y límite inferior de lo normal (-2SD)**

Edad	Hb (g/dL)		Hto (%)		VCM (fL)		HCM (pg)		CHCM (g/dL)	
	Media	-2SD	Media	-2SD	Media	-2SD	Media	-2SD	Media	-2SD
1 mes	14,0	10,0	43	31	104	85	34	28	33	29
2 meses	11,5	9,0	35	28	96	77	30	26	33	29
3-6 meses	11,5	9,5	35	29	91	74	30	25	33	30
0,5-2 años	12,0	10,5	36	33	78	70	27	23	33	30
2-6 años	12,5	11,5	37	34	81	75	27	24	34	31
6-12 años	13,5	11,5	40	35	86	77	29	25	34	31
12-18 años										
Sexo femenino	14,0	12,0	41	36	90	78	30	25	34	31
Sexo masculino	14,5	13,0	43	37	88	78	30	25	34	31
18-49 años										
Sexo femenino	14,0	12,0	41	36	90	80	30	26	34	31
Sexo masculino	15,5	13,5	47	41	90	80	30	26	34	31

*Adaptada de: Hoffman R, et al. Elsevier Health Sciences; 2013<sup>(1)</sup>. CHCM: concentración de hemoglobina corpuscular media; Hb: hemoglobina; HCM: hemoglobina corpuscular media; Hto: hematocrito; VCM: volumen corpuscular medio*

Taula 3

*Eritropatología Ambos Marketing Services, S.L.; Edición: 1*

HCM: Hemoglobina corpuscular mitjana = Contingut mitjà d'Hb a cada hematie.

- Anèmia microcítica= disminueix el VCM i disminueix l'HCM
- Anèmia macrocítica = augmenta el VCM i augmenta l'HCM

L'HCM s'utilitza, conjuntament amb el VCM, per a la classificació de les anèmies, ja que les causes d'alteració d'aquests paràmetres són similars, però no té utilitat per al diagnòstic diferencial de les eritocitosis.

CHCM: Concentració d'Hb corpuscular mitjana = Concentració d'Hb en relació a la massa total d'eritròcits. Té poca utilitat pràctica.

- Hipercromia (per sobre els nivells): esferocitosi
- Hipocromia (per sota els nivells): anèmia ferropènica
- Normocromia: concentració normal d'Hb

ADE=RWD: Amplitud de distribució de la mida dels eritròcits = És el coeficient de variació de la curvatura de la distribució segons el volum dels hematies. Ens permet saber la uniformitat de la mida del hematies. Quantifica la anisocitosi, que és l'existència d'hematies de diferents mides. El valor normal va entre 11'5 i 14 %

- Microcitosi amb ADE normal = Talassèmia
- Microcitosi amb ADE augmentada = Ferropènia
- Macrocitosi amb ADE normal = Anèmia aplàsica (tipus d'anèmia, no es produeixen suficients cèl·lules noves).
- Macrocitosi amb ADE augmentat = Anèmia megaloblàstica

HDW = Índex de distribució de l'Hb en hematies = S'altera quan hi ha doble població d'hematies. El tenen alterat els pacients amb transfusions o amb anèmia ferropènica en tractament.

Reticulòcits (RETIS) = Els reticulòcits són hematies joves que conserven restes d'ARN i tenen una vida mitjana a la sang perifèrica de 24h abans de convertir-se en hematies madurs. El recompte es fa manualment, però com que pot estar alterat per un increment o reducció d'hematies madurs, és necessari corregir-lo segons el valor d'Hct. Ens informen de la capacitat regenerativa de la medul·la òssia. Són imprescindibles en l'estudi d'anèmies i molt important en la monitorització del tractament. Permeten distingir entre anèmies arregeneratives i anèmies regeneratives.

Índex reticulocitari= Índex de producció de reticulòcits. Varia en funció de la vida mitjana dels reticulòcits i de la intensitat de l'anèmia. Així doncs, si l'IR és superior a 2'5%, indica una anèmia regenerativa, mentre que si és inferior a 2'5%, és una anèmia arregenerativa.

Policitèmia = Augment de l'hematòcrit (proporció de glòbuls vermells en volum sanguini).

En els casos normals l'Hb és superior a 17 g/dl o l'Hct superior al 50%. En recent nascuts l'Hb és superior a 22 g/dl o l' Hto superior al 65%. S'han de descartar pacients amb hemoconcentració (cremats, deshidratats) per determinar aquest paràmetre. Ens permet subclassificar les anèmies.

### **Paràmetres complementaris**

- Perfil dèficit ferro (FERR, TFE (transferrina))
- Perfil megaloblàstic: àcid Fòlic (FOLAT) i Vitamina B12
- Perfil hemolític:
  - Determinació d'antiglobulina directe (presència d'anticossos a la superfície dels eritròcits).
  - LDH (lactat deshidrogenasa).
  - Bilirrubina total (pigment procedent de la degradació de l'hemoglobina dels glòbuls vermells).
  - Haptoglobina (proteïna que s'uneix a l'hemoglobina).
  - Actualment els analitzadors disposen també de recompte d'eritroblastes (hematies immadurs) així com reticulòcits (hematies no nuclears amb restes de reticle endoplasmàtic al seu citoplasma). Ambdós paràmetres poden ser d'utilitat en rutina i alguns casos urgents.

### **Alteracions de la forma:**

- Poliquilocitosi: diverses formes
- Esquistòcits: eritròcits fragmentats (2-3  $\mu\text{m}$  de  $\emptyset$ )
- Estomatòcits: forma de boca
- Dacriòcits: hematies amb una prolongació anòmala, adoptant forma de llàgrima
- Esferòcits: forma rodona i sense fenestra central
- Ovalòcits: forma ovalada; molt freqüents en anèmies megaloblàstiques (increment del VCM)
- Eliptòcits: forma allargada amb extrems simètrics (1% en CN)
- Drepanòcits: forma de falç
- Dianòcits: forma de diana; són hematies amb excés de superfície, amb àrea central de major contingut d'hemoglobina i d'aspecte de diana.
- Eritròcits espiculats: equinòcits (hematies esferoïdals amb espícules regulars a la superfície).

### **Alteracions en la coloració**

- Anisocromia: quantitat d'Hb diferent; signe dismòrfic (doble població)
- Hipocromia: eritròcits poc tenyits (disminució Hb)
- Hiperchromia: eritròcits excessivament tenyits
- Policromasia: presència de reticulòcits
- Cossos de Howell-Jolly: corpuscles rodons petits
- Cossos de Pappenheimer: sideròcits (petit tamany, perifèrics, contenen partícules de ferro. Són típics de l'anèmia refractària Sideroblàstica)
- Anells de Cabot: fina línia en forma d'anell (Trastorn profund d'eritropoesis)
- Puntejat basòfil: restes de ribosomes. Estan descrites incusions intraeritrocitàries amb puntejat basòfil a la Malaltia de Günther en el context d'esplenectomia i hemòlisi.

	REGENERATIVA	ARREGENERATIVA
MICROCÍTICA	<ul style="list-style-type: none"> <li>- HEMOLÍTICAS CONGÉNITAS O CORPUSCULARES (ESFEROCITOSIS, <b>TALASEMIA</b>)</li> <li>- FERROPÉNICA EN TRATAMIENTO</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>FERROPÉNICA</b></li> <li>- INFECCIÓN O INFLAMACIÓN CRÓNICA</li> <li>- INTOXICACIÓN POR PLOMO</li> </ul>
NORMOCÍTICA	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>HEMOLÍTICAS</b> EXTRACORPUSCULARES (HIPERESPLENISMO, MICROANGIOPATÍA, FÁRMACOS, INFECCIONES)</li> <li>- HEMOLÍTICAS CORPUSCULARES (HEMOGLOBINOPATÍAS Y CRISIS HEMOLÍTICAS EN ESFEROCITOSIS Y ENZIMOPATÍAS G6PD)</li> <li>- <b>HEMORRAGIA AGUDA</b></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>APLASIA MEDULAR</b></li> <li>- INFILTRACIÓN MEDULAR</li> <li>- CRISIS APLÁSICAS O ERITROBLASTOPÉNICAS EN HEMOLÍTICAS CORPUSCULARES (ESFEROCITOSIS, DREPANOCITOSIS)</li> <li>- <b>ANEMIAS INFECCIOSAS</b></li> <li>- NEFROPATÍA CRÓNICA</li> </ul>
MACROCÍTICA	<ul style="list-style-type: none"> <li>- CRISIS HEMOLÍTICAS EN AHAI CON RETICULOCITOSIS MARCADA</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- <b>DEFICIT ACIDO FÓLICO O VITAMINA B12</b></li> <li>- ALGUNA APLASIA MEDULAR CONGÉNITA (FANCONI) O ADQUIRIDA</li> <li>- ENFERMEDAD HEPÁTICA</li> <li>- SD. MIELODISPLÁSICOS</li> <li>- HIPOTIROIDISMO</li> </ul>

Taula 4 Interpretación del hemograma y de las pruebas de coagulación (2012)

Tabla 1. Enfermedades de los hematíes: anemia y poliglobulia, y sus características principales

Anemia	No hemolítica	Adquirida	Anemia carencial (ferropenia, déficit B <sub>12</sub> y/o ácido fólico)
			Anemia de las enfermedades inflamatorias
			Anemia secundaria a enfermedad hepática o renal
			Anemia aplásica
		Congénita	Síndromes de fallo medular congénitos
	Hemolítica	Adquirida	Anemias sideroblásticas
			Formas ligeras de hemoglobinopatías (beta talasemia <i>minor</i> , portadores de alfa talasemia)
			Alteraciones del metabolismo del hierro
		Congénita	Autoinmunes
			Alloinmunes
Poliglobulia	Primaria	Adquirida	Hemoglobinuria paroxística nocturna
		Congénita	Infeciones
	Secundaria	Adquirida	Microangiopatías
		Congénita	Formas graves de hemoglobinopatías
			Enfermedades de la membrana del hematíe
	Idiopática	Adquirida	Déficits enzimáticos
		Congénita	Anemias diseritropoyéticas congénitas



Un cop fet l'hemograma hem d'observar diferents paràmetres dels resultats per **classificar** els pacients entre dos grups: Anèmics regeneratius o anèmic arregeneratius

- Si els reticulòcits surten molt elevats tenim una **anèmia regenerativa o bé una hemorràgia**. En aquest cas són **anèmies hemolítiques**, que poden ser congènites o adquirides.
- Si els reticulòcits surten normals o baixos tenim una **anèmia arregenerativa**. En aquest cas tenen una insuficiència medul·lar, per tant són anèmies **carencials**.



*Esquema 1 Diagnòstic i seguiment de les anèmies al laboratori.*

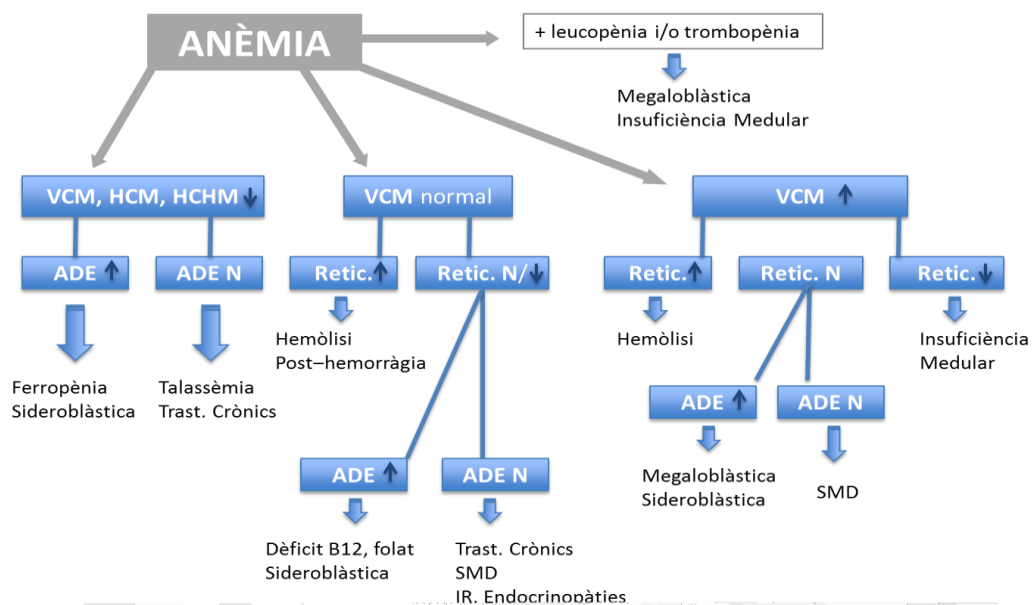
Si ja sabem que l'anèmia és carencial, hem d'observar el volum corpuscular mitjà (VCM).

- Si aquest volum és baix i els reticulòcits també són baixos, és necessari un anàlisi **ferropènic**.
- Si el VCM és elevat i els reticulòcits baixos s'ha d'analitzar el Folat i la B12 i ens indica una anèmia **megaloblàstica o aplàsica**.

Si ja sabem que l'anèmia no és carencial és a dir, que té el recompte reticulocitari elevat, hem d'observar els paràmetres complementaris de l'hemograma.

- Si tenim l'LDH i la bilirubina elevats i l'haptoglobulina baixa, els paràmetres ens estan indicant un cas **d'anèmia hemolítica o una hemorràgia**.
- Si tots aquests paràmetres es troben dins els límits i a més tenim una anèmia regenerativa (retis alts) llavors estem parlant d'una **hemoglobinopatia**.

Algoritme diagnòstic d'anèmia



Esquema 2

Diagnòstic i seguiment de les anèmies al laboratori.

### 2.8.2.2 Citometria de flux

La citometria de flux és una bona tècnica per conèixer la naturalesa de les cèl·lules sanguínies madures i sanes o bé immadures i neoplàsiques (tenen un creixement anormal), per determinar pronòstics i per adjudicar teràpies adequades. És adient per fer anàlisis immunofenotípics de sang, fluids, aspiracions de medul·la òssia i de teixit limfoide. També és ideal per mostres petites, la naturalesa de les quals permet dividir les cèl·lules en diferents colors, segons la seva coloració. La citometria pot caracteritzar tant superfícies com l'expressió proteica citoplasmàtica. A més, la citometria pot donar quantificacions molt acurades dels antígens cel·lulars (molècula que indueix la formació d'anticossos). L'ús de la citometria va en augment en les teràpies basades en anticossos (glicoproteïnes utilitzades pel sistema immunitari per identificar i neutralitzar elements estranys al cos). La identificació, gràcies a la citometria, d'objectius terapèutics a la superfície de cèl·lules malignes permet determinar la forma de teràpia més adient per cada pacient. Quan un diagnòstic està determinat, la citometria ofereix, amb una alta sensibilitat, la detecció de malalties mínimes que pugui tenir el pacient, i així aquestes es poden atacar amb teràpies prèvies, des d'un inici.



## **Principis generals**

En la citometria de flux, les cèl·lules passen ràpidament d'una en una a través d'uns làsers fins. La cèl·lula, en passar, trenca momentàniament el raig, dispersant la llum en un angle petit. Aquest procés es coneix com a 'dispersió endavant'. La divisió entre la dispersió cap endavant i la dispersió d'angle petit que et proporciona la citometria, és proporcional al volum de la cèl·lula. La llum del làser, es divideix simultàniament, formant un angle gran creat pel xoc d'aquesta amb els components intercel·lulars i nuclears. Aquesta fase s'anomena 'dispersió lateral'. Aquesta dispersió lateral és proporcional a la complexitat cel·lular que està determinada per la quantitat i el tipus d'irregularitats membranoses i de característiques nuclears. Les característiques que ens proporciona la dispersió de la llum també es poden utilitzar per fer anàlisis restringits a cèl·lules concretes. Les propietats físiques d'aquestes dispersions identifiquen acuradament els tipus de cèl·lules i són la base de molts analitzadors hematològics que ofereixen resultats automatitzats del recompte de cèl·lules diferents.

Les propietats de la citometria de flux i la dispersió lateral també permeten que les cèl·lules es caracteritzin per tenyiment amb diferents marcadors fluorescents com ara anticossos als quals se'ls ha afegit DNA fluorescent. Si una cèl·lula expressa un antigen que és unit a un anticòs fluorescent, aquest emetrà llum a una determinada longitud d'ona que estarà mesurada pels detectors. Si s'utilitza en combinació amb tint de DNA, el contingut del DNA també es pot determinar. Cada marcador fluorescent emet un únic i identificable espectre que està mesurat al mateix temps amb diversos detectors. La majoria de laboratoris clínics utilitzen de 6 a 8 colors per la citometria de flux. El mínim acceptable per assegurar la discriminació fiable de colònies de cèl·lules neoplàstiques en diverses mostres és l'anàlisi de quatre colors.

Inicialment la citometria de flux determinava la presència o absència de llinatge específic o llinatge associat d'antígens, però les interpretacions immunofenotípiques es feien segons un simple resultat, negatiu o positiu, d'un determinat antigen. Aquesta identificació és poc fiable per a conèixer els tipus de cèl·lules i determinar-ne les característiques. Com que l'expressió d'antígens de molts limfoides neoplàsics se sobreposa amb l'expressió del seu homòleg normal, l'habilitat de la citometria de flux per destacar patrons subtils temporals i la intensitat dels antígens la converteix en una tècnica extremadament potent en el diagnòstic de neoplàsia.

## General

Les mostres adequades per a la citometria de flux són: de sang, de medul·la òssia, de nòdul (àrea sòlida de teixit), de limfa, de biòpsies de teixit extra nodular, d'aspiracions d'agulla i de fluids corporals. La guia de consens internacional d'indicacions mèdiques de la citometria de flux està disponible i es basa en l'historial mèdic i els símptomes del pacient. El temps de preparació de les mostres és necessari per maximitzar el rendiment cel·lular, per mantenir la viabilitat i la integritat de la cèl·lula i per prevenir la pèrdua de cèl·lules anormals d'interès. Les mostres de sang i de medul·la òssia s'han de guardar en un medi anticoagulant adient. La lisis (trencament de membrana cel·lular) és el mètode més utilitzat per treure l'excés d'eritròcits. En els pacients amb medul·la òssia inextraïble, fer diverses citometries de flux amb biòpsies del nucli és recomanat. Aquest nuclis es desagreguen per deixar en llibertat les cèl·lules en la suspensió fluida abans de la citometria.

Les porcions de teixit per la citometria han de ser d'una àrea que també estigui sotmesa a histologia (estudi dels teixits orgànics) per minimitzar la discordança. Les porcions intactes de teixit s'han de transformar en suspensions cel·lulars, per ser utilitzades en la citometria. La disgregació de teixits és simple i ràpida i allibera les cèl·lules gairebé sense alterar. S'aconsegueix tallant, extraient i separant el teixit amb eines manuals. La dissociació enzimàtica s'ha utilitat en teixits fibrosos, tot i això, pot alterar l'expressió dels antígens i reduir la fiabilitat de la prova.

Els protocols de la coloració dels anticossos varien segons l'aplicació que se'ls dona. Els panells d'anticossos estan dissenyats per classificació de llinatge i requereixen un alt coneixement dels patrons normals d'expressió dels antígens i de les cèl·lules neoplàstiques.

L'espectre emès pel raigs fluorescents varia i s'utilitza per a fer la detecció dels anticossos. Diversos anticossos són necessaris per fer l'assignament de llinatge. La majoria d'anticossos no són específics per una cèl·lula i les cèl·lules neoplàstiques poden tenir un o més antígens d'un llinatge particular. Tot i això, el número d'agents utilitzats hauria de ser suficient per permetre el reconeixement de totes les cèl·lules normals i anormals de la mostra. Per això limitar el nombre d'anticossos pot fer ballar l'exactitud del diagnòstic. En general, com més gran és el panell d'anticossos utilitzat, més alta és la sensibilitat i especificitat de detecció i caracterització de les cèl·lules. Per consens internacional, el nombre d'agents necessaris per avaluar adequadament una mostra de neoplasma hematològics depèn de la presència de

síntomes. A més, els marcadors de superfície i els intercel·lulars poden ser útils en el pronòstic i també haurien de ser estudiats.

### **Viabilitat**

Hi ha una menor viabilitat en mostres de teixit sòlides i en limfomes agressius. Les cèl·lules no viables poden unir els anticossos i interferir en la resposta immunofenotípica. Una mostra de baixa viabilitat formada gairebé totalment de cèl·lules neoplàsiques pot donar resultats significatius. A més a més, moltes mostres utilitzades en la citometria de flux es consideren insubstituïbles, perquè han de passar prèviament per un procediment invasiu que provoca efectes a la cèl·lula i és molt difícil o gairebé impossible de tornar-les a recol·lectar després dels processos. Degut a això, cada mostra s'ha d'utilitzar per obtenir informació de diagnòstic. No hi ha cap límit que marqui quines espècies s'han de rebutjar i no poden ser utilitzades en la citometria; tot i això, les normes més generals recomanen evitar mostres amb menys d'un 75% de viabilitat. En les mostres insubstituïbles amb una baixa viabilitat qualsevol població de cèl·lules anormals hauria de ser informada prèviament. L'error en la identificació de neoplasmes en una mostra amb poca viabilitat no s'hauria de considerar un resultat negatiu total i se li haurien d'aplicar altres testos per tenir més informació.

#### **2.8.2.3 Cromatografia líquida d'alta resolució (HPLC)**

La cromatografia és un conjunt de tècniques d'anàlisi basades en la separació de components d'una solució en columna i la seva posterior detecció. Les tècniques cromatogràfiques són molt variades, però en totes elles hi ha els mateixos components. Una fase mòbil, que és un fluid que arrossega la mostra amb una pressió constant proporcionada per una bomba. Seguint amb el mateix nivell de pressió, la mostra és portada a una columna on hi ha la fase estacionària que es tracta d'un sòlid o un líquid immiscible. Les diferents substàncies que formen la mostra s'anomenen analits i són els que avançaran pel sistema amb velocitats diferents

Els components de la solució interaccionen de manera diferent amb la fase estacionària i la fase mòbil. D'aquesta manera els components travessen la fase estacionària a velocitats diferents i es van separant.

Un cop els components han passat per la fase estacionaria i ja s'han separat, passen per un detector que genera una senyal que pot dependre de la concentració i el tipus de compost.

La funció fonamental de les bombes és impulsar la fase mòbil a una pressió i velocitat constants. El procés d'injecció de la mostra actualment és automàtic. Les columnes utilitzades són d'acer inoxidable. La funció dels detectors és bàsicament indicar el moment d'aparició dels diferents component que formen la mostra i qualificar-los tant qualitativament com quantitativament.

El temps de retenció de les molècules de naturalesa apolar és superior. En canvi, les molècules de caràcter polar flueixen més ràpidament.

En aquest tipus d'estudi es recomana que es filtrin i netegin tot tipus de components abans de ser introduïdes dins el sistema d'HPLC, amb el propòsit d'evitar danys futurs.

La cromatografia també s'ha vist ser molt útil en l'estudi d'alguns àcids concrets utilitzant el sistema HPLC fase inversa. S'anomena així perquè s'analitza utilitzant les polaritats dels compostos que s'analitzaran en un futur, ja que la fase mòbil és més polar que la fase estacionaria.

### Procés de derivatització

La derivatització precolumna és un afegit a la cromatografia de fase reversa. Originalment es va introduir degut a l'increment de demanda de major sensibilitat i major velocitat dels anàlisi. Actualment és molt útil, degut als avantatges de la metodologia que inclouen simplicitat, velocitat i alta sensibilitat.

Per això, si el que es requereix és màxima sensibilitat de detecció, és adient utilitzar un reactiu fluorescent combinat amb la derivatització precolumna.

El principal desavantatge és la necessitat d'assegurar la completa reacció del reactiu derivatitzant i la possibilitat d'interferència amb la separació d'excés del reactiu, amb el medi de reacció o la producció de diferents derivats d'un component.

A més de l'estabilitat del derivat també hi ha un altre factor important per la derivatització precolumna: el retard entre la derivatització i la injecció, fet fonamental pels resultats.

La mostra per analitzar s'introdueix en petites quantitats i els seus components es retarden diferentment, depenent de les interaccions químiques o físiques amb la fase estacionaria, a mesura que avancen per la columna.

Un cop sabem que la mostra que tenim pertany a un pacient amb una hemoglobinopatia, li hem de fer una HPLC per situar-la en un dels quatre casos següents:

- $A_0$  ó  $A_1$
- $A_2$  = talassèmia
- S // -C = Anèmies estructurals

Si ens surten els resultats determinant una anèmia estructural (com és el cas de l'anèmia falciforme) s'ha de continuar amb més tècniques per comprovar que ho sigui.

#### **2.8.2.4 Electroforesi capil·lar (EC)**

L'electroforesi capil·lar és una tècnica analítica que permet la separació i quantificació de moltes mostres d'anàlisi que provenen de diferents àrees de la biotecnologia, la indústria, la farmacèutica...Aquesta tècnica és eficaç perquè combina elements d'altres tècniques analítiques. Els capil·lars que la formen permeten l'aplicació d'alts camps elèctrics. La tècnica es basa en separar les proteïnes en un medi líquid sotmeses a l'acció d'un camp elèctric segons les diferents velocitats de desplaçament.

Els grups de la superfície del capil·lar estan ionitzats. per tant, la paret capil·lar presenta càrrega negativa. En aquesta paret se li formarà una primera capa fixa de contraions (cations) que són atrets per la càrrega negativa del capil·lar. A sobre d'aquesta hi ha una segona capa mòbil composta principalment de cations que estan enganxats a la capa fixa. El nombre de cations i anions són equivalents. En aplicar-hi un camp elèctric, l'excés de cations de la capa mòbil es desplaça cap al pol negatiu (càtode). Això crea un flux electroosmòtic. La mobilitat d'aquest flux depèn de la viscositat de la solució, la constant dielèctrica del medi i la diferència de càrregues entre capes.

El desplaçament de les mostres (analit) dins un camp elèctric està determinada per la força del camp i la càrrega de l'analit. Tot i això aquesta velocitat disminueix si s'incrementen les forces de fricció.

L'automatització de l'EC ha permès desenvolupar mètodes més eficients. De forma general, el sistema d'electroforesi capil·lar està format pels següents elements:

- Capil·lar: compartiment on es realitza la separació.
- Reservoris amb solució amortidora: on es submergeixen els elèctrodes i el capil·lar.
- Reservoris: on es col·loquen les mostres.
- Elèctrodes: generadors de l'ànode i el càtode.
- Font d'alt voltatge: Generadora del camp elèctric.
- Sistema d'injecció de la mostra
- Sistema de control de temperatura.
- Detector: connectat a un sistema d'adquisició de dades.

Degut al principi de separació i als detectors d'alta sensibilitat, l'EC té diversos avantatges: alta eficiència perquè permet la separació amb un perfil quasi pla; excel·lent resolució; límits de detecció de fins a ppm; mínim tractament de mostres; mínim consum de mostres i reactius i temps d'anàlisi ràpid que oscil·la entre 5 i 60 min.

L'EC s'utilitza per a l'anàlisi i la separació d'una àmplia gama d'analits. Dins l'EC hi ha involucrades una família de tècniques:

- Electroforesi capil·lar de zona (separació en relació a la massa/càrrega dels analits)
- Electroforesi capil·lar en gel (separació per pes molecular)
- Electroforesi capil·lar no aquosa (separació de compostos insolubles en aigua)
- Isoelectroenfocament capil·lar (separació per punt isoelèctric)
- Cromatografia electrocinètica capil·lar (separació segons la interacció d'analits)
- Cromatografia electrocinètica micel·lar (separació amb base al coeficient de participació dels analits)
- Cromatografia electrocinètica de micraemulsió (separació amb base en la interacció dels analits).

En cada una de les variants de l'EC s'utilitzen solucions amortidores (solució el ph de la qual es modifica molt poc al afegir-hi àcids i bases) que s'introdueixen dins el capil·lar. Quan el capil·lar és ple i condicionat amb una solució amortidora, se li injecta la mostra. Posterior a la injecció de la mostra, es realitza la migració i separació dels analits dins del capil·lar per acció del camp elèctric. La separació dels analits es basa en la diferencia de relació càrrega/massa i en l'afinitat que presenten als diferents additius de la solució amortidora. També s'utilitza la

viscositat del sistema i la temperatura de separació com a marcadors. La temperatura a la qual es realitzen les separacions va de 10 a 60 °C depenent de les característiques de la mostra.

Els factors principals que poden afectar l'eficiència de la separació dels analits són la calor generada, l'absorció de la mostra a les parets, la concentració dels analits a la mostra, la força iònica, el pH de les solucions amortidores i la temperatura. Per això és necessari realitzar una optimització del mètode, considerant el cost benefici de cada una de les variables. La separació es realitza en columna. Un ordinador s'encarrega del control de la instrumentació i de l'adquisició i tractament de dades.

Els resultats demostren que l'EC crea una àrea d'oportunitats en la que es pot treballar per al desenvolupament de mètodes de separació amb gran eficàcia, perquè té grans avantatges en la tècnica. Aquesta tècnica és utilitzada per la comprovació de les hemoglobinopaties estructurals.

## **2.9 TRACTAMENT**

Segon la descripció inicial de l'anèmia falciforme coneguda durant el 1910-1970, no hi havia una teràpia eficient per la malaltia i la majoria dels pacients afectats morien durant els primers 20 anys de vida, la majoria dels quals degut a una complicació infecciosa. Actualment, estudis, noves cures i millors tractaments, han permès portar la mitjana de mortalitat a països desenvolupats a 42 anys en homes, i 48 en dones. Els següents tòpics són mètodes que s'utilitzen per fer més lleu el patiment de la malaltia.

### **2.9.1. Tractament per el dolor**

#### **- Hidroxiurea**

El 1948 l'hematòleg Watson va suggerir que la manca de cèl·lules falciformes en la sang dels recent nascuts era degut a la presència elevada d'HbF. Des d'aquest moment hi ha hagut un alt interès en trobar teràpies per regular el canvi de l'hemoglobina fetal a l'hemoglobina del recent nascut. La hidroxiurea es va convertir en el centre d'interès, ja que es va observar que incrementa els nivells d'HbF. A alguns pacients als quals la hidroxiurea no els fa la funció adequada, també la utilitzen per obtenir altres beneficis clínics.

Alguns estudis van demostrar que la incidència de crisis doloroses es reduïa de 4'5 a 2'5 per any, si els pacients eren tractats amb hidroxiurea. Els valors de síndrome agut de pit i les transfusions necessàries també es reduïen considerablement. Una reducció del 40% de la mortalitat també va aparèixer en pacients amb aquest tractament. Es va considerar la hidroxiurea com l'única teràpia modificadora de la malaltia. El tractament s'ha comprovat que és efectiu tan amb nens com en adults.

El tractament amb hidroxiurea pot incloure's en pacients amb diferents síndromes de cèl·lules falciformes. Tot i això no es recomana aquest tractament en malalts amb HbSC, perquè no s'han publicat evidències de la seva eficàcia, perquè els principals problemes que pateixen aquests pacients els no són causats per la formació dels eritròcits i la hemòlisis, sinó per la viscositat augmentada.

El tractament provoca efectes contradictoris com ara augment de pes, alopecia, hiperpigmentació de la pell i les ungles, nàusees i vòmits, i úlceres mucoses. Degut als



efectes tòxics del seu ús, el tractament té baixa eficiència, ja que els professionals l'utilitzen amb valors inferiors als apropiats, per precaució. Considerant les toxicitats que pot provocar el tractament, les anàlisis són necessàries cada dues setmanes, durant el tractament. Un elevat MCV indica una bona adhesió al tractament.

Alguns casos de càncer i leucèmia s'han vist desenvolupats en pacients adults tractats amb hidroxiurea. Tot i que la incidència és superior que en la resta de la població, els casos no són comprovats. La hidroxiurea hauria d'utilitzar-se gairebé en tots els nens i adults. Tot i això, no tots els pacients que es beneficiarien d'aquest tractament, el reben.

- **Teràpia transfusional**

En els pacients amb anèmia falciforme, els beneficis de les transfusions que milloren l'hemodinàmica (funcionament de la sang) i l'oxigenació, estan combinats amb el risc de patir nivells de ferro elevats, al·loimmunització (desenvolupament d'anticossos), reaccions adverses a les transfusions o d'agafar infeccions d'agents virals.

Les indicacions de necessitat de transfusió són tenir l'hemoglobina per sota de 5 g/dL, o menys de 6 g/dL i símptomes, o qualsevol tipus de complicació greu com vessaments, anèmia aplàstica, acumulació sanguínia o síndrome de pit.

Les transfusions d'intercanvi es reserven pels casos més extrems, com són la síndrome aguda de pit amb errors pulmonars, l'apoplexia aguda, els errors de diversos òrgans o les sèpsies (estat inflamatori general).

Les transfusions redueixen algunes complicacions de la malaltia i poden ser un mètode de salvar vides, tot i això, quan són repetitives, provoquen una sobrecàrrega de ferro i una facilitat per agafar infeccions virals. Per a la síndrome aguda de pit, no s'ha comprovat si són millors les transfusions simples o les d'intercanvi, però, en casos d'anèmia greu i apoplexia, són més efectives les transfusions simples.

Amb l'edat i l'inici d'errors renals, l'anèmia es converteix en simptomàtica i les transfusions són necessàries per regular els nivells d'hematòcrit i evitar els errors renals.

És important que els pacients reconeguin el seu fenotip eritrocitari abans d'iniciar un programa de transfusions cròniques, si no, l'al·loimmunització apareix en molts pacients.

- **Transplantament de cèl·lules mare hematopoètiques**

Tot i els avanços, la durada de la vida dels malalts continua sent menor que l'esperança de vida normal. Tot i que l'hidroxiurea redueix les complicacions agudes, no hi ha tractament per prevenir els danys irreversibles dels òrgans. A més, només d'un 20 a un 30% dels pacients consumeix la droga.

El transplantament de cèl·lules mare és l'únic mètode actual curatiu de la malaltia. Les indicacions que marquen que el pacient necessita un transplantament són els vessaments freqüents, la síndrome agut de pit -gairebé constant- o habituals atacs oclusius. El transplantament s'ha dut a terme en centenars de casos pediàtrics i nombrosos casos d'adults amb anèmia falciforme.

Els transplantaments amb cèl·lules mare de germans donen uns resultats excel·lents. Tot i això, també hi ha casos de rebuig, i un percentatge molt menor de mortalitat degut al transplantament. Els pacients que han acceptat el transplantament de cèl·lules mare, han deixat de patir les complicacions de l'anèmia falciforme i no han patit més episodis de dolor, apoplexia, síndrome de pit ni cap altra complicació de la malaltia. També els hi han desaparegut els problemes neuronals i tenen el sistema central estable. Tot i això, en el sistema vascular, no ha set sempre una solució total. La recerca actual està duent-se a terme per aconseguir fer transplantaments a una proporció major de malalts d'anèmia falciforme (usant cèl·lules del cordó umbilical). La finalitat d'aquests estudis és aconseguir alternatives eficients per pacients que no tenen germans donants, i així incrementar la capacitat de cura de la malaltia.

Només un 10% dels pacients tenen donants compatibles. Actualment s'intenta que es puguin fer transplantaments amb pacients haploidèntics, i així un nombre més elevat de pacients podria rebre aquest tractament.

## **2.9.2 Tractament per les complicacions clíniques**

- **Episodis d'oclusió de vasos**

Els atacs d'oclusió de vasos en els malalts d'anèmia falciforme són molt intensos i afecten tant nens com adults. Els sistemes d'escaneig mostren símptomes d'infecció de medul·la òssia, però no detecten futures oclusions.

Per tal d'aguantar els atacs s'utilitzen altes dosis d'opioides i drogues antiinflamatòries (NSAID's). Les grans dosis d'opioides són donades als centres mèdics i guiades per la noció del propi malalt, segons el dolor que sent comparat amb altres vegades. Als pacients que estan en constant malestar se'ls donen dosis de narcòtics amb poca diferència de temps entre l'una i l'altre. D'aquests pacients, els que intueixen un futur atac oclusius, han de ser traslladats al centre de control d'analgèsia.

Un dels obstacles més comuns en el tractament d'atacs oclusius és la por del metge a donar una sobredosi de tractament al pacient o crear addiccions. Per això, en general, els professionals intenten controlar l'abús dels opioides, fet que acostuma a frustrar els pacients, ja que ells prefereixen prendre molt de tractament per no sentir el dolor (addicció).

Les teràpies no farmacològiques com la relaxació, l'acupuntura o l'escalfor localitzada, també poden ser afectives i s'han d'incorporar per poder controlar els episodis dolorosos.

Diversos estudis demostren que el control ràpid i efectiu d'atacs oclusius no complicats a través del propi malalt, redueix l'hospitalització i la durada d'aquesta si es necessària.

- **Quelació del ferro (sobrecàrrega de Fe en alguns teixits)**

Els pacients que han rebut més de deu transfusions han de recórrer a un test que indiqui els nivells del ferro. Als Estats Units, els agents (fàrmacs) de quelació orals es venen i se'n recomana l'administració quan els nivells de ferritina són menors a 500ng/mL. Els pacients que tenen sobrecàrrega de ferro i utilitzen aquests tractaments han de fer-se controls de toxicitat hepàtics, renals, auditius i visuals i s'han de controlar molt la zona renal ja que hi ha tendència a desenvolupar malalties renals. Alguns dels efectes adversos d'aquests tractaments són la dispèpsia (indigestió) i la diarrea.

Degut a transfusions repetides, la sobrecàrrega de ferro pot desencadenar errors del cor i del fetge. Per decidir quan iniciar el procés de quelació i, per tal de controlar-lo, són necessàries ressonàncies magnètiques.

La majoria dels pacients pateixen augments en la ferritina i la proteïnúria. La desferasirox (agent de quelació) és un dels mètodes més utilitzats per controlar-les. Tot i això, té efectes secundaris, com ara problemes gastrointestinals, reaccions a la pell, toxicitat a l'orella o a la retina i anormalitats de creixement. Hi ha altres queladors de ferro menys

potents, però molt eficients en els casos on hi ha alta concentració de ferro a la zona cardíaca.

- **Teràpia d'hipertensió pulmonar**

No tenim teràpies marcades guiades per tractar els problemes pulmonars, sinó que es segueix l'opinió dels experts. Per pacients amb hipertensió pulmonar lleu, és important detectar-la ràpidament, perquè pot provocar conseqüències greus, com ara hipòxia (falta d'oxigen), apnea, embòlia pulmonar, malaltia pulmonar, fibrosis, anèmia severa, ferro elevat...Aquests pacients han d'incloure en el seu tractament la hidroxiurea i per aquells que no poden tolerar-la o no l'accepten és necessari iniciar les transfusions cròniques.

Hi ha unes quantes drogues aprovades per tractar la hipertensió arterial pulmonar. No hi ha estudis publicats on es demostrï l'eficiència d'aquests tractaments. Certament, un estudi preclínic amb placebo i drogues va ser parat ràpidament degut a l'augment d'hospitalització per atacs d'oclusió.

Els anticoagulants estan indicats pels pacients que tenen complicacions pulmonars tromboembòliques i beneficia a als pacients que tenen hipertensió pulmonar.

Generalment, els pacients amb hipertensió són asimptomàtics fins que desenvolupen la malaltia. El control per malalts amb pocs símptomes i una velocitat sanguínia cardíaca poc elevada, no ha estat comprovat amb cap tractament. Per als simptomàtics, l'ús d'hidroxiurea, de transfusions i d'anticoagulants s'ha vist efectiu.

- **Priapisme**

El tractament es basa en els analgèsics i la hidratació. No hi ha evidències dels beneficis d'ús de transfusions. La irrigació sanguínia és recomanada si l'episodi dura més de quatre hores. L'operació només s'ha de considerar una solució si l'atac dura entre 24 i 48 hores.

- **Síndrome agut de pit**

Per controlar el síndrome s'utilitzen les tècniques bàsiques semblants als pacients que pateixen pulmonia. Tot i això, quan hi ha hipòxia continuada es requereix un suplement d'oxigen i un control de la saturació d'oxigen a la sang. Els opioides es necessiten normalment, però les dosis han de ser controlades, per no arribar a patir depressió respiratòria o hipòxia greu.

Les transfusions sanguínies són el tractament per quan el pacient es torna hipòxic, desenvolupa dolor respiratori, té baixada d'hematòcrit, augment de leucòcits o quan demostra algun signe d'errors en els òrgans. S'utilitzen tant les tècniques de transfusió simple com la de transfusió d'intercanvi.

La mort causada pel síndrome de pit és menor al 10%, però hi ha alguns pacients que desenvolupen la complicació molt ràpid. Les causes de la malaltia són: hidratació excessiva, embòlia grassa o atacs oclusius. Alguns pacients tenen episodis repetits del síndrome. L'ús de transfusions en redueix els casos. La hidroxiurea també en redueix els casos un 50%.

- **Osteonecrosis i malaltia de l'os**

El seu tractament es basa en el suport dels ossos de càrrega, el consum d'antiinflamatoris i la teràpia física, per a controlar la progressió de l'osteonecrosi. L'osteoporosi i la pèrdua de densitat òssia acostumen a aparèixer degut a la deficiència de vitamina D. Tractaments amb calci i vitamina D són recomanables.

- **Apoplexia**

L'ús de transfusions cròniques redueix la possibilitat de patir apoplexies degut a infarts cerebrals després d'estabilitzacions. El tractament a llarg termini no és clar, i si les transfusions redueixen els casos, tampoc s'ha comprovat. En els nenes, s'ha observat que els que tenen una velocitat augmentada dels eritròcits tenen més disposició a patir apoplexia, aquests han d'iniciar transfusions cròniques, però no se sap quan s'han de començar a utilitzar de forma discontinua.

- **Dolor crònic**

La majoria de pacients amb anèmia falciforme pateixen dolor gairebé cada dia. Els pacients que han passat eficaçment de l'etapa infantil a la adulta i que intenten tenir una vida normal, viuen més distrets i necessiten menys suport farmacològic. Tot i això, en la majoria de casos, dosis curtes o llargues d'administració d'opioides són necessàries per motivar el pacient a controlar el dolor a casa i minimitzar l'emergència. Les drogues pel patiment neuronal també han de ser subministrades en alguns pacients, en combinació amb els opioides.

Com que els tractaments amb analgèsics són llargs, és necessària la consulta prèvia amb especialistes del dolor. La toxicologia de l'orina acostuma a ser elevada i és un indicador, ja que s'hauria de notar disminuïda en períodes amb menys necessitat de tractament.

- **Episodi dolorós**

Prendre la decisió de si el pacient necessita hospitalització o no es fa segons la durada del dolor i les respostes al tractament. La febre baixa i un increment lleu de leucòcits indiquen un futur episodi dolorós, en canvi temperatures altes indiquen infecció o danys extensos a teixits.

El control dels episodis dolorosos es fa amb dosis d'analgèsics opioïdes. El dolor normalment ve acompanyat d'una reduïda ingesta de fluids i susceptibilitat a la deshidratació. La ingesta de fluids salins ha de ser augmentada, però s'ha de combinar la hidratació amb controls de potassi per evitar errors cardíacs.

L'oxigen només s'administra a pacients amb hipòxia quan hi ha un estrès respiratori greu (síndrome agut que genera disnea i fallada cardíaca). Les infeccions s'han de tractar al més ràpid possible. La introducció intravenosa de sulfat de magnesi, juntament amb les teràpies habituals dels atacs oclusius, s'ha vist que redueixen l'estada hospitalària i el dolor, en nens de 4 a 18 anys.

L'ús d'analgèsic permet que, si altres tractaments com hidratació o oxigen són necessaris, es puguin utilitzar. La clau per controlar el dolor és tenir un control individualitzat del tractament i les dosis. És necessari fer valoracions freqüents de les dosis d'opioïdes en aquells pacients que se'ls prenen seguint un esquema constant. La morfina i l'hidromorfina són els principals opioïdes utilitzats. La meperidina s'hauria d'evitar, perquè causa excitació del sistema nerviós central.

- **Malaltia renal**

En un anàlisi clínic es va observar que, amb un tractament de sis mesos, un producte anomenat captopril reduïa un 37% la micralbúmina (proteïna). Tot i això, no se sap encara si l'ús a llarg termini és beneficiós. Les drogues antiinflamatòries s'haurien d'evitar en pacients amb alts nivells de ceratina (proteïna). La diàlisi i el transplantament renal s'utilitzen en l'estadi final de nefropatia en els malats d'anèmia falciforme, però els resultats són menys favorables que en pacients sense la malaltia.

- **Qüestions quirúrgiques**

Els pacients amb anèmia falciforme pateixen diverses preparacions preoperatives. Les transfusions sanguínies són necessàries abans de qualsevol tipus d'operació sanguínia. Les transfusions simples són tan afectives com les transfusions d'intercanvi, per prevenir complicacions postoperatives.

La necrosi dels caps femorals és la complicació ortopèdica més comuna en els malalts afectats. Les operacions generalment es duen a terme quan el dolor i la incapacitat de tolerància de la necrosi superen al pacient.

Generalment, els malalts pateixen pedres i càlculs biliars. Les operacions causades per aquests problemes són molt comunes.

El transplantament de ronyó és molt afectiu per els malalts que utilitzen teràpia crònica renal.

Recentment el transplantament de pulmó en malalts amb una gran hipertensió ha set productiu.

L'implant de catèters té un risc molt més alt en els malalts i pot desencadenar complicacions severes, incloent trombosis. Per evitar-ho, dosis baixes d'anticoagulants són recomanades.

- **Agents simuladors d'eritropoesis**

Els pacients amb problemes renals o que utilitzen tractament amb hidroxiurea acostumen a tenir una reticulocitopenia (valor inferior de glòbuls vermells joves a la sang). En aquests casos són necessaris agents eritropoietics (estimuladors de la cèl·lula mare). Generalment aquests agents s'utilitzen en combinació amb la hidroxiurea.

En els pacients amb HbSS, com que tenen expansió de la medul·la òssia, es considera la utilització de nivells més elevats d'agents estimulants. La dosi d'aquests agents es pot augmentar d'un 20 a un 25 % per setmana en els pacients que no responen correctament. Els testos per controlar el valor d'hematòcrit són essencials, per no produir sobredosis.

### **2.9.3 Tractaments innovadors**

- **Teràpies experimentals**

Durant l'última dècada han sorgit moltes novetats en teràpies per l'anèmia falciforme. Nous tractaments farmacològics com l'ús de la L-glutamina, que redueix l'estrès oxidant dels eritròcits ha demostrat resultats interessants en assajos i en estadis avançats de desenvolupament de la malaltia.

- **Modulació de cèl·lules deshidratades**

La deshidratació de cèl·lules té un paper important en la polimerització de l'HbS i en la formació d'eritròcits. Està causada per la pèrdua d'aigua degut a l'activació del canal proteic de K i Ca. Un inhibidor del canal va ser provat en assajos, i es va demostrar que augmentava l'hemoglobina i reduïa la hemòlisis, però no era funcional en episodis de dolor. Es creu que en un futur s'usaran les teràpies de deshidratació per reduir els atacs oclusius.

- **Modulació d'òxid nítric**

L'òxid nítric és un biogàs que promou la relaxació arterial, l'adhesió cel·lular a l'endoteli, l'hemostàsia (procés per aturar hemorràgies) i la viscositat sanguínia. En els malalts d'anèmia falciforme l'activitat de l'NO és reduïda degut a una disminució de la producció d'aquest òxid. Un suplement alimentari, que és un precursor de l'NO, promou la dilatació de les artèries terminals on les obstruccions acostumen a passar. També produeix el decreixement de la pressió arterial pulmonar. Tot i això, estudis recents mostren que el consum del precursor de l'NO o la inhibició del propi NO, no provoquen un benefici en els atacs oclusius.

- **Direccions futures, teràpia gènica**

S'estan fent experiments per provocar nivells superiors d'HbF, per reduir la capacitat d'adhesió dels eritròcits a l'endoteli i per controlar l'afinitat de l'oxigen i els eritròcits falciformes.

L'última cura trobada és la teràpia en gens. Un grup francès ha publicat que, un pacient, va estar tractat positivament a través de la inserció d'una antibeta globina de formació d'eritròcits dins de cèl·lules mare. Llavors, les cèl·lules produïdes van ser introduïdes dins



el pacient, el qual es va alliberar de l'anèmia falciforme al cap de 15 mesos del transplantament.

- **Infeccions bacterials**

Abans de l'era dels antibiòtics la majoria dels pacients amb anèmia falciforme morien per infeccions bacterianes d'organismes encapsulats. Un important estudi de proves clíniques, utilitzant penicil·lina oral amb nens amb anèmia falciforme, es va publicar el 1986. L'estudi va demostrar que la incidència bacteriana disminuïa un 80% en els pacients als qui se subministrava tractament, en comparació als que rebien placebo. Aquest estudi va iniciar la fundació de l'estudi universal de l'anèmia de cèl·lules falciformes. Estudis demostren que, per prevenir la complicacions tots els nens haurien de rebre més vacunació de l'establerta de bacteris encapsulats.

- **Atacs neurològics**

Els vessaments cerebrals són una complicació devastadora, habitual dels malalts d'anèmia falciforme que afecta principalment a nens amb HbSS. Els infarts cerebrals silenciosos també són conseqüències asimptomàtiques de la malaltia que provoquen un alt risc de mortalitat. Hi ha evidències que asseguren que les transfusions cròniques són efectives com a prevenció primària i secundària tan en vessaments silenciosos com en simptomàtics. Més endavant també es va descobrir que les transfusions tenen un efecte beneficiós en els infarts cerebrals silenciosos, ja que els redueixen. La importància de les transfusions ha estat remarcada per diverses investigacions, perquè s'ha detectat una disminució important d'atacs cerebrals silenciosos en comparació amb els grups no utilitzadors de transfusions. Tot i això, les transfusions no són la solució, ja que tenen efectes colaterals a llarg termini.

Durant els últims anys hi ha hagut un especial interès en l'exploració de l'ús de la hidroxiurea. Es creia que podria ser una substitució de les transfusions en nens amb alt risc. S'ha comprovat que la hidroxiurea pot mantenir un nivell acceptable de vessaments i una reduïda sobrecàrrega de ferro al fetge, si el comparem amb els casos tractats amb transfusions cròniques, tant en nens com en adults. Tot i això, saber si és segur o no continuar amb el tractament a través de transfusions en un nivell secundari, encara és un fet desconegut. Se sap que aquesta droga (hidroxiurea) és igual d'eficient en prevenció primària de les complicacions neurològiques.

## **2.10 SEGUIMENT I PRONÒSTIC**

L'anèmia falciforme es pot considerar una malaltia crònica i els pacients, com a tals han de rebre atenció programada.

L'hematòleg és el metge més important en el procés i essencial per l'elaboració d'un programa de cures de seguiment de tot el procés. Els nadons també han de ser visitats molt sovint, cada pocs mesos. Els nens a partir de dos anys d'edat i els adults han de ser visitats un mínim d'un cop l'any.

- Uròleg: Els malalts d'AFC tenen problemes renals des d'una etapa molt inicial i tenen risc de parada renal. Les visites a l'especialista han de ser habituals.
- Ortopedista: Les persones amb ACF tenen necrosi d'ossos. Aquest problema és difícil de tractar i per tant han de rebre visites seguides a l'ortopedista.
- Cardiòleg: Els malalts tenen el cor engrandit i poden rebre fallada cardíaca. Qualsevol d'aquests problemes han de ser controlats per l'especialista.
- Genetista: Qualsevol pacient afectat de la malaltia, tant en el cas de portadors com en el d'afectats, és molt important rebre consell genètic, per tal d'evitar casos de reproducció problemàtics en descendents amb ACF. Per això es realitzen testos, per saber el genotip de la parella, ja que aquest descriu clarament la situació i permet que ells prenguin la millor decisió.
- Oftalmòleg: Les complicacions a la retina són freqüents, per això una o dues visites l'any a la consulta de la vista són requerides.
- Psicòleg: Els malalts acostumen a necessitar ajuda per afrontar els problemes de la vida, ja que necessiten un nivell emocional i anèmic elevat per aguantar les complicacions.
- Ginecòleg: Les embarassades amb ACF han d'estar molt controlades durant la gestació, ja que aquesta és d'alt risc. També han de controlar els anticonceptius, perquè alguns d'ells no són aptes.
- Neuròleg: Els vessaments cerebrals acostumen a succeir en els afectats, però es poden prevenir i tractar. Els malalts reben consell del neuròleg i se'ls fan ecografies al cap.

## **2.11 PREVENCIÓ I CRIBRATGE**

La prevenció ha set la clau de l'èxit durant els últims anys. El test a recent nascuts (tamisatge) ha provocat una gran disminució dels casos de mortalitat, en comparació amb altres pacients diagnosticats en una etapa més tardana de la malaltia. El coneixement sobre la malaltia i l'actuació amb rapidesa han permès grans millores.

És essencial tenir un equip format pel pediatre, l'hematòleg, el genetista, la infermera i els psicòlegs, per tal de donar un bon coneixement als pares sobre els fets que puguin passar i saber com actuar per evitar complicacions fatals.

Les vacunacions contra infeccions de gèrmens encapsulats, contra el virus de l'hepatitis B, la febre groga, l'hepatitis A i la malària, són recomanades en els pacients amb anèmia falciforme, per evitar possibles infeccions que poden empitjorar la malaltia.

### **Prevenió primària**

En poblacions on l'HbS (hemoglobina falciforme) és molt abundant, la detecció d'heterozigots és simple, però hi ha poques proves de detecció. Una bona prevenció és el consell genètic, per parelles que vulguin tenir fills. Aquestes parelles tenen l'opció de fer-se les proves i descobrir les possibilitats de tenir un bebè afectat o no.

### **Mesures generals**

L'anèmia falciforme és una malaltia crònica, en la qual, la bona alimentació i les immunitzacions són essencials.

Els nens d'uns 5 anys no necessiten tractament crònic amb antibiòtics. Els testos neonatals permeten detectar els nadons malalts des d'un bon començament i, així se'ls pot proporcionar penicil·lina. Això redueix la incidència de mortalitat causada per bacteris, en nens més petits de cinc anys.

Degut a la producció elevada d'eritròcits i l'alimentació inadequada, el subministrament d'àcid fòlic és recomanat, però pot ser no necessari, si es manté una bona dieta.

La transició de l'etapa d'infància a la d'adult és una etapa realment de vulnerabilitat. Aquest període hauria de ser portat tant per professionals d'infantils com d'adults.

## **Consideracions nutricionals**

La malnutrició, el retard de creixement i la sobredosis de greix en la massa corporal són habituals en nens i adolescents amb anèmia falciforme, degut a la seva demanda augmentada de calories i l'estat hipermetabòlic. Els problemes nutricionals són habituals i el consell d'especialistes és recomanat. La hipovitaminosis D i la falta de minerals en els ossos, també són habituals. Es recomanen dosis d'àcid fòlic per millorar aquestes mancances. Actualment hi ha molt d'interès en els nutrients antioxidants, però encara no hi ha una guia del seu funcionament. El petit grup d'afectats, amb sobrepès o obesos, tenen el risc alt de patir problemes ortopèdics. Aquests pacients també han de rebre recomanacions nutricionals.

## **Cribratge neonatal**

Catalunya és la comunitat autònoma amb més nadons afectat d'anèmia falciforme. Aquest fet ha creat la necessitat d'augmentar el nombre d'estudis neonatals. El cribratge es realitza fent una punxada al taló just després del naixement i extraient una mostra de sang, a la qual se li realitzen proves analítiques. A partir de l'any 2013 es va iniciar com a prova pilot i, actualment, encara és utilitzada.

## **Estudis familiars**

Aquests estudis els fan a famílies amb descendents amb anèmia falciforme. L'objectiu de les proves és tenir la població malalta i portadora, controlada per tal d'evitar unions que puguin generar descendents amb la malaltia.

## **PART PRÀCTICA**

### **3. ESTUDI**

#### **3.1 RESUM**

Aquesta part del treball està formada per dos estudis: un diagnòstic d'11 pacients amb trets anèmics i una comparació de cinc casos de dreapanocitosis.

Amb l'anàlisi conjunt dels dos projectes vull posar en pràctica la metodologia diagnòstica per determinar anèmies estudiada al marc teòric. A la primera part em centraré en el mètode diagnòstic per fer una classificació més general de les anèmies. A la segona realitzaré un estudi comparatiu de diferents casos d'anèmics falciformes també guiant-me a través dels resultats obtinguts a partir del diagnòstic.

#### **3.2 PARAULES CLAU**

Persona anèmica: Disminució de la quantitat d'hemoglobina en sang per sota d'11 g/dL en nens, de 12 g/dL en dones i de 13 g/dL en homes.

Hidroxiurea: Fàrmac comunament utilitzat com a tractament de l'anèmia falciforme. Veure apartat 2.9.1

Portador: Paraula procedent del llatí formada per la combinació de dos elements: la paraula "portare" que significa portar i el sufixe "-dor" que és sinònim d'agent. És a dir és l'individu que aparentment sembla sa i no té clínica però té l'agent infeccios i pot servir com a font de contagi.

Paràmetres eritrocitaris de l'hemograma: Veure l'apartat 2.8.2.1

#### **3.3 OBJECCIUS**

- Descobrir si puc aconseguir realitzar un diagnòstic jo mateixa a través de les proves utilitzades avui en dia amb les meves capacitats.
- Verificar l'eficàcia del mètode actual, la seva importància i validesa.
- Distingir si tots els casos d'anèmia falciforme són tan pautats com sembla.
- Valorar si en comparació a les tècniques actuals el mètode està suficientment desenvolupat.

### **3.4 MATERIAL I MÈTODES**

La primera part es va basar en analitzar onze pacients amb un hemograma i, segons les dades obtingudes, fer una hipòtesis de quina patologia podien patir (seguint els valors de les taules de l'apartat 2.8.2.1). Llavors, segons aquesta, fer més proves per comprovar si la hipòtesis que jo havia extret era correcte o no.

La segona part del treball consisteix en analitzar cinc pacients malalts i comparar-ne els seus casos.

Els tres primers són malalts d'anèmia falciforme. Tot i que tenen la mateixa patologia, sota un punt de vista genètic, es troben en estat clínics diferents i tenen morbiditat i mortalitat associada variable.

La tercera pacient té una hemoglobina SC. Es considera malalta, però és un cas diferent, sense complicacions clíniques. Finalment, l'últim cas és un portador de drepanocitosi.

La finalitat d'aquest capítol és veure que, tot i estudiar només una malaltia, cada pacient és un cas únic i diferent als altres.

La meva tasca va consistir en buscar els hemogrames antics dels malalts, estudiar-ne les dades, analitzar els períodes interessants i fer gràfiques d'aquestes etapes per poder distingir visualment els moments de crisi, d'estabilitat i de recuperació.



*Imatge 5*



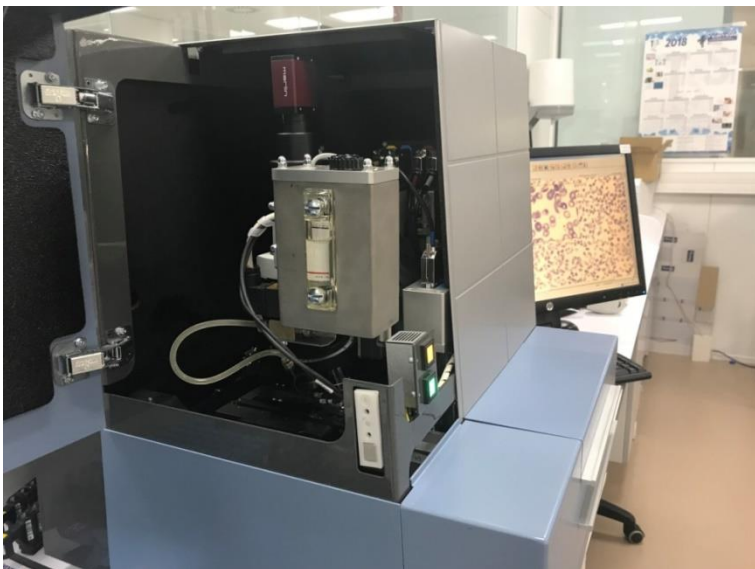
*Imatge 6*

Maquinària per realitzar hemogrames. *Hospital Santa Caterina Girona. Laboratori d'hematologia i coagulació.*



*Imatge 7*

Màquina per dur a terme Cromatografies líquides d'alta resolució. *Hospital Santa Caterina Girona. Laboratori d'hematologia i coagulació.*



*Imatge 8*

Microscopi electrònic amb observació de resultats a l'ordinador (mostra d'eritròcits falciformes a la fotografia). *Hospital Santa Caterina Girona. Laboratori d'hematologia i coagulació.*



### 3.5 RESULTATS

#### 3.5.1. Estudi diagnòstic d'11 pacients

CAS	EDAT	SEXE	ERIT	Hb (g/dL)	VCM (fL)	HCM (pg)	CHCM (g/dL)	ADE (%)	RETIS (10*6/ $\mu$ L)	FERR (ng/mL)	FOLAT (ng/mL)	B12 (pg)
1	84	Home	3'09	9'5	93'2	31	33	13'6		354	3'44	339'8
2	24	Home	5'4	15'3	83'1	28	34	13'3	1'6	43		
3	38	Dona	4'83	10'6	72'7	22	30	17'8	1'6	12		
4	40	Home	5'54	14'1	81'2	26	31	14'6	1	55		
5	9	Dona	5'17	13'7	79'9	27	33	12'3	1'8			
6	56	Home	5'19	12'1	75'7	23	31	15'8	2'2	98		
7	6	Dona	5'52	10'3	62'7	19	30	19'8	1	6		
8	23	Dona	5'22	13'1	82'8	25	30	14'2	1	44	4'57	535'7
9	29	Home	5'7	13'6	78'1	24	31	13'9	0'9	90		
10	15	Home	3'43	10'4	86'3	30	35	15'9	5'6	63		
11	37	Dona	2'74	9'9	104	36	35	17'2	1	248	2,39	50

**CAS 1:** Persona anèmica amb nombre baix d'eritròcits. Perfil fèrric i B12 normals, folat baix. Té hematúria (presència d'eritròcits a l'orina -signe de patologia al ronyó-). El fet que el ronyó estigui danyat, no permet la producció habitual de l'hormona que provoca l'estímul de producció d'eritròcits al moll de l'os. És per això que el recompte eritrocitari es veu disminuït i la persona és anèmica. Si analitzéssim els reticulòcits, també serien baixos. Tot i que el pacient pateix una anèmia de trastorns crònics, aquesta queda emmascarada pel tractament amb eritropoetina que se li subministra. La complicació que observem a l'hemograma amb el folat disminuït és un tipus d'anèmia carencial megaloblàstica.

**CAS 2:** Persona no anèmica amb recompte de reticulòcits correcte, normocític, mostra dolor abdominal, procedent de l'estranger. Li demanem una HPCL perquè sospitem que sigui un possible portador d'anèmia estructural (no visible amb un hemograma). Per això és necessària la cromatografia líquida d'alta resolució. A més, no té analítiques prèvies, per tant se li demanarà una examinació general. Els resultats de l'HPLC mostren que els valors d'hemoglobinopaties són normals, per tant el pacient no pateix cap tipus de patologia ni tampoc n'és portador de cap. És per això que el seu hemograma és normal. Els valors de

l'HPCL són els següents i mostren una persona sana: HbA1= 96'2% / HbA2= 2'6% / HbSS= 0 / HbC= 0 / Hb F= 1'2

**CAS 3:** És una dona anèmica amb un recompte reticulocitari baix, per tan pateix una anèmia arregenerativa. El fet de tenir el VCM baix (microcítica) ens indicaria una anèmia ferropènica, i l'anàlisi de ferritina, també amb resultats baixos, ens afirma aquesta hipòtesis. Per tant, la pacient pateix una anèmia ferropènica. Els altres paràmetres demanats per analitzar ens indiquen que la pacient és una dona en gestació.

**CAS 4:** És un home amb tots els paràmetres dins els límits menys el recompte d'eritròcits, que està una mica elevat; per tant, no és anèmic. Té dolors abdominals. Té els reticulòcits correctes i no és ferropènic. És originari de l'estranger i només té un anàlisi anterior; per tant, se li realitzarà una HPCL. S'espera que sigui portador d'una hemoglobinopatia estructural. Els resultats de la cromatografia mostren que la meua hipòtesis és errònia ja que té tots els valors dins els paràmetres (HbA1= 96'1 / HbA2 = 2'7 / HbF= 1'2 / HbC = 0 / HbSS= 0); per tant, no és portador de cap patologia. Els valors d'hemoglobina i concentració d'hemoglobina baixos són marcadors d'un futur estat ferropènic. El nivell baix però dins els límits de ferritina és un precursor determinant d'aquest possible futur estat ferropènic. De moment els valors toquen els límits i, per tant, no se li recomanarà cap tractament, només un control d'aquí a un temps.

**CAS 5:** Infant de 9 anys amb tots els paràmetres dins el marcadors. Té un hemograma perfecte. Degut a que la seva procedència és d'un país amb freqüència d'hemoglobinopaties, volem comprovar que no sigui unar portadora d'una possible hemoglobinopatia estructural ja que aquests casos no presenten símptomes de la malaltia. Es realitzarà una HPCL per observar si és així. Els resultats mostren hemoglobines normals (HbA1= 96 / HbA2= 2'6 / HbF= 1'4 / HbSS = 0 / HbC = 0). No és portador de cap hemoglobinopatia estructural i no té cap patologia.

**CAS 6:** És un home anèmic amb els reticulòcits lleument disminuïts i el VCM baix, per tant, amb una anèmia microcítica. Els niells de ferritina són correctes. Té un ADE elevat per tant es prediu que tindrà una anèmia arregenerativa carencial. El fet de tenir reticulòcits baixos determina per una ferropènia. Per assegurar-ho se li realitzarà l'anàlisi de la resta del perfil fèrric. Aquest anàlisi confirma la meua hipòtesi destacant nivells molt baixos de transferrina.

**CAS 7:** És una nena amb anèmia microcítica amb el VCM molt baix i un recompte de reticulòcits dins els límits. Sembla que té una anèmia carencial i, el fet de que el volum sigui molt baix i la dispersió elevada, ens indica una ferropènia. Per això se li farà l'anàlisi ferropènic. El resultat d'aquesta prova mostra un nivell de ferritina molt baix confirmant la meua hipòtesis.

**CAS 8:** Dona no anèmica, normocítica, amb l'hemoglobina corpuscular mitja baixa i els reticulòcits baixos. Té els nivells de ferritina, folat i B12 dins els paràmetres. Al principi, la meua hipòtesis era que patia un estat ferropènic sense anèmia, però, al veure els resultats, vaig confirmar que no és així: es troba en un estat carencial de depleció cel·lular. Aquest és l'estadi previ a una anèmia carencial. Aquest fet es reconeix perquè té uns valors de transferrina (TFE) molt baixos. De moment la pacient no té danys cel·lulars ni complicacions clíniques; per tant no necessita més proves diagnòstiques.

**CAS 9:** És un home no anèmic amb un nombre d'eritròcits elevat, però amb un volum corpuscular baix (microcític). Té els valors d'HCM i CHCM també lleument disminuïts. La dispersió és normal; per tant, sembla una hemoglobinopatia. Per això se li realitzarà una HPCL. En tenir marcadors a l'hemograma, es prediu que serà un cas de talassèmia. Els resultats de l'anàlisi mostren que la meua hipòtesi és correcta. El pacient és homozigot per la talassèmia.

**CAS 10:** Home d'origen africà. Té una anèmia amb nombre d'eritròcits molt baix i paràmetre de ferritina correcte. Té el recompte reticulocitari alt; per tant, pateix una anèmia regenerativa. La dispersió també és alta; per tant segurament té una hemoglobinopatia. Degut al seu origen, sembla que pugui ser una drepanocitosis. Se li realitzarà una HPCL per comprovar-ho. Els resultats confirmen que el pacient té homozigosis per l'Hb S (74'2%) (pateix anèmia falciforme). Tot i això també té valors elevats d'HbF (19'8%). Aquest tret és positiu, ja que elevar els nivells d'Hb F és el que fa el tractament amb hidroxiurea; per tant, aquest pacient no necessitarà el tractament, perquè el seu propi cos ja l'autogenera. És una persistència pròpia que té el pacient.

**CAS 11:** És una dona anèmica amb un recompte d'eritròcits molt baix. Té un volum eritrocitari molt alt i una concentració també elevada; per tant, pateix una anèmia macrocítica. Els reticulòcits són baixos, però dins dels paràmetres, i la dispersió és elevada. Els nivells de ferritina es troben alts i els de folat i B12, bruscament disminuïts. Al principi, semblava una anèmia arregenerativa carencial megaloblàstica, però el fet de comprovar la meua hipòtesis

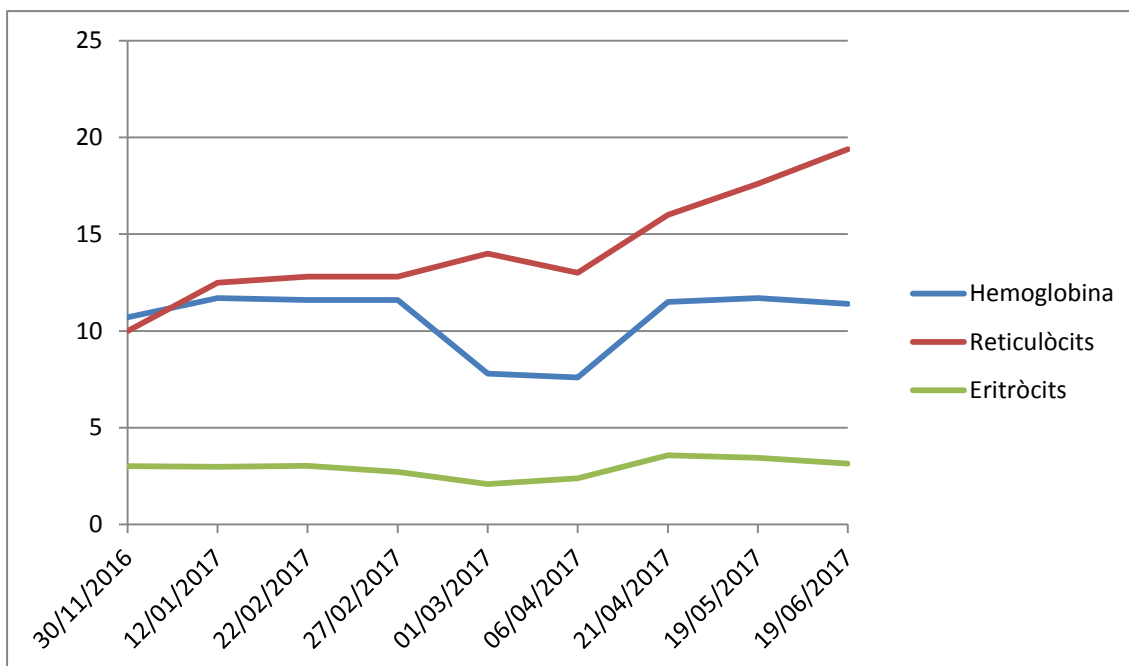
amb els paràmetres complementaris (LDH, bilirubina, haptoglobina) em va fer veure que el que patia era un cas d'anèmia macrocítica hemolítica, ja que el trencament dels hematies provoca l'augment exagerat de l'LDH i la bilirubina i la disminució de l'haptoglobina, i aquestes són les característiques que té la pacient.

### **3.5.2. Comparació de 5 casos de drepanocitosi**

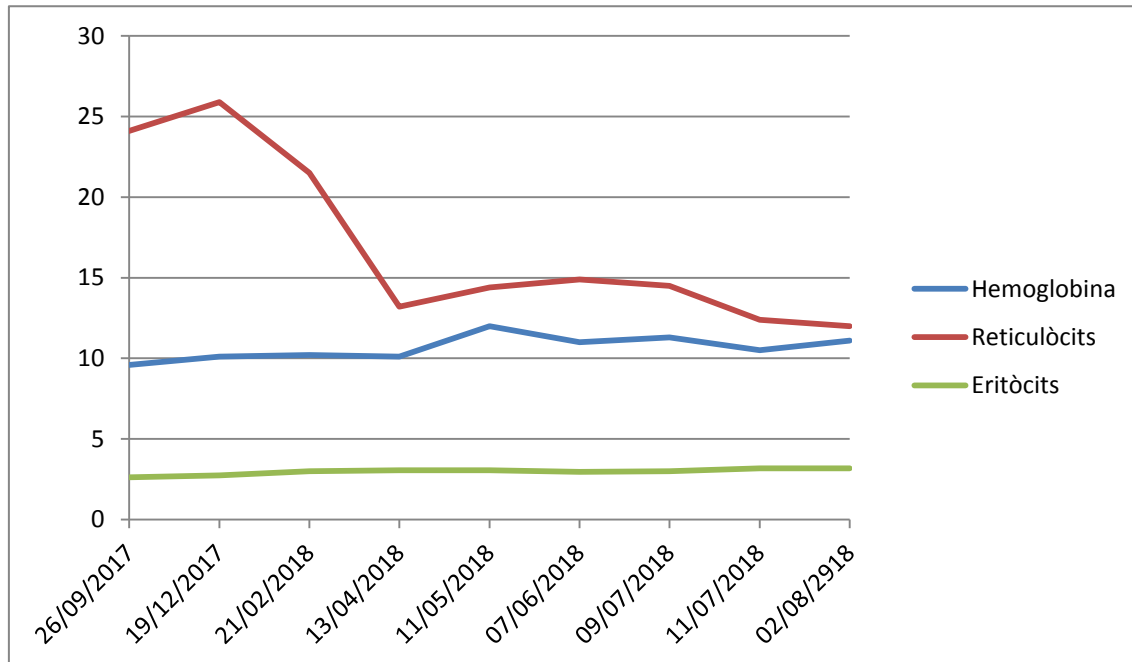
El primer pacient que vaig estudiar és un noi de 27 anys d'origen hondureny. Les dues gràfiques següents mostren la seva evolució. A la gràfica 1, es pot observar que a finals del 2016, tenia uns paràmetres d'hemoglobina baixos, és a dir, era anèmic, però els seus paràmetres estaven controlats amb tractament d'hidroxiurea. Durant aquesta fase el malalt vivia a casa. A inicis del 2017, el pacient pateix una greu crisi. Aquesta es veu reflectida al gràfic amb una forta disminució del valor d'hemoglobina, una baixada també del paràmetre eritrocitari i un augment del recompte reticulocitari. Aquesta pujada de reticulòcits és deguda al fet que el cos detecta pocs eritròcits i, com a resposta, sintetitza més reticulòcits per intentar solucionar el problema. El pacient durant aquest període va estar ingressat a la UCI i va passar dos mesos intern a l'hospital fins a recuperar-se de la crisi. Un cop passat aquest temps, se li va permetre tronar a casa i continuar amb el tractament habitual, perquè els paràmetres tornaven a ser estables, com al principi.

La segona representació mostra els últims mesos del pacient. A principis de setembre el malalt es va tornar intolerant al tractament oral que rebia fins al moment i va provocar una altra crisi, com es pot observar. L'hemoglobina va disminuir i els reticulòcits fan una important ascensió. A partir d'aquest moment el pacient va canviar de tractament i la hidroxiurea es va substituir per l'afèresis (canvi de sang). Com a conseqüència, durant els últims mesos fins l'actualitat, el malalt ha tingut nivells d'hemoglobina, d'eritròcits i de reticulòcits estables; per tant, això indica que el tractament que rep actualment és l'adequat.

Actualment el pacient està amb valors estables, però utilitzant ja l'últim recurs conegut per aguantar la malaltia. Només li quedaria com a última opció un transplantament de medul·la.



Gràfica 1 / CAS 1

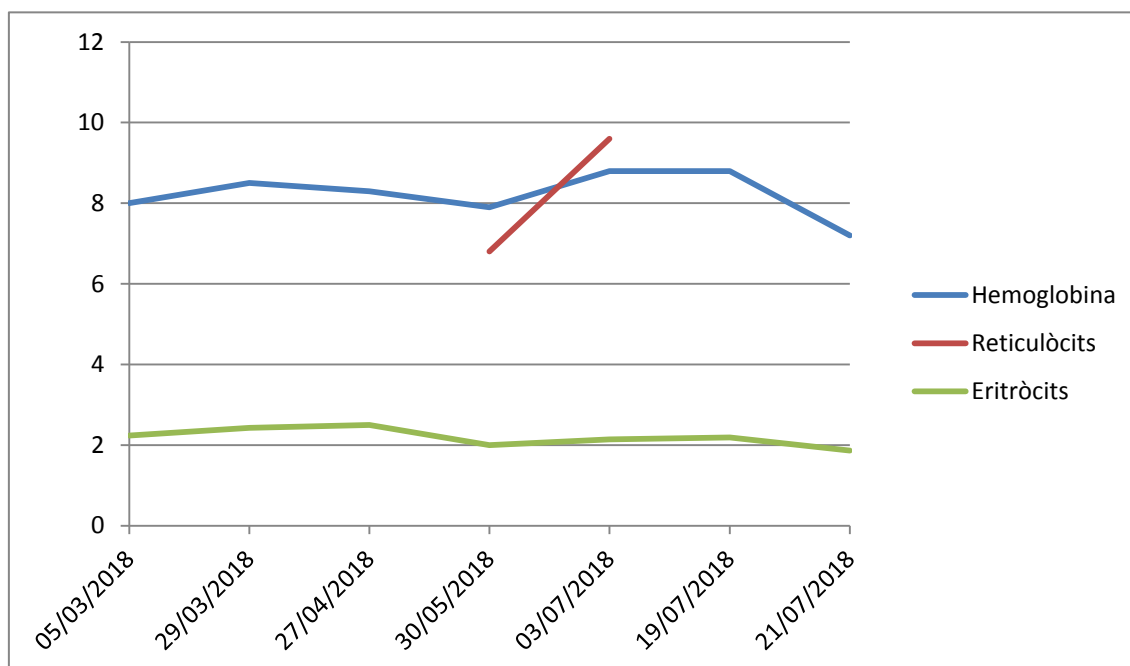


Gràfica 2 / CAS 1

El segon cas és una noia de 26 anys. Els resultats extrets de les seves últimes analítiques i expressats al gràfic mostren que és un cas estable. Els valors dels tres paràmetres estudiats oscil·len molt poc. Continua sent una persona molt anèmica, amb un recompte eritrocitari molt baix, però amb estabilitat, que és l'objectiu principal per els pacients. El tractament d'hidroxiurea que utilitza ja li permet aconseguir aquests valors.

Els paràmetres reticulocitaris no estan representats al gràfic, perquè no van estar mesurats en els anàlisis, ja que no es va considerar necessari, degut al seu equilibri durador. Només apareixen durant un curt període en el qual hi va haver una disminució d'hemoglobina, motiu pel qual es devia decidir analitzar-los.

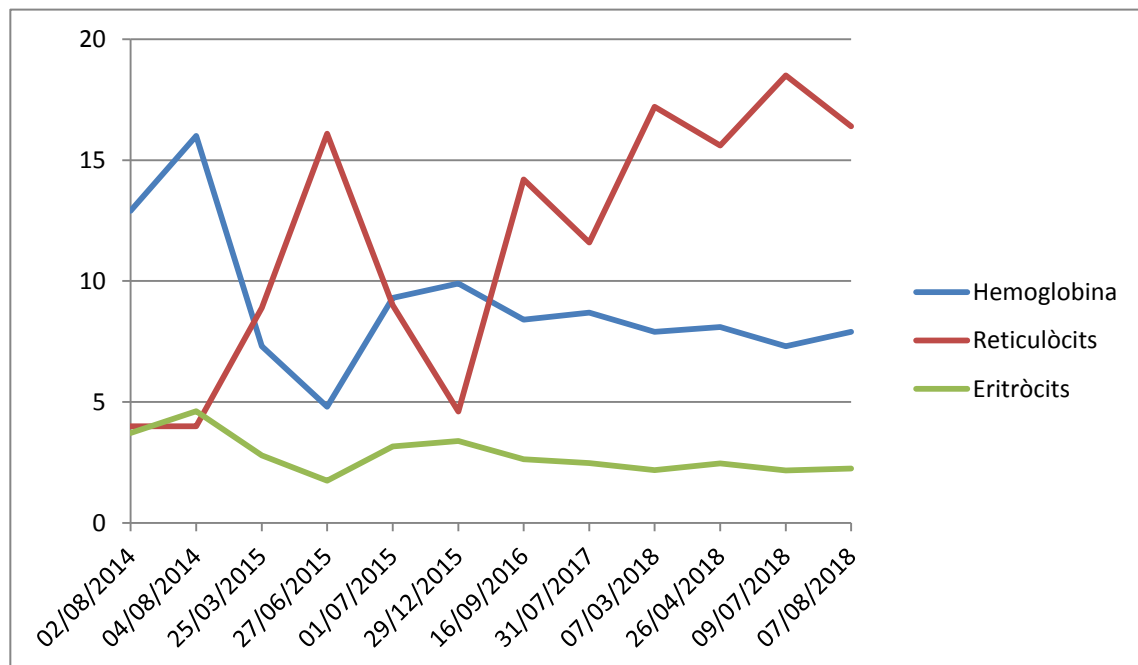
És una pacient molt menys greu que el primer cas, tot i tenir gairebé la mateixa edat. Alguns estudis mostren que és així perquè la malalta va arribar al país amb 5 anys i, des d'aquesta edat ha estat tractada i controlada. En canvi, el pacient del cas 1 va arribar amb una edat aproximada de 14 anys i fins aquell moment no havia rebut cap mena de prova, diagnòstic o tractament.



Gràfica 3 / CAS 2

El tercer pacient és un infant de quatre anys diagnosticat com a malalt d'anèmia falciforme des de naixement. Els seus paràmetres són completament inestables. A l'inici, durant el primer any, com podem percebre al gràfic, tenia uns nivells d'hemoglobina correctes i els valors de reticulòcits i eritròcits dins els paràmetres. Això es deu al fet que durant el primer període després del naixement els valors d'HbF són elevats encara i emmascaren la malaltia. A partir del primer any hi ha una baixada dràstica de l'hemoglobina, que arriba a un valor inferior a 5, fet que provoca que l'infant hagi de ser transfós. Com a resposta a aquesta disminució podem distingir un increment exagerat del recompte reticulocitari. Així doncs, el pacient rep una transfusió a finals de juny del 2015. A partir d'aquest moment el pacient és tractat amb hidroxiurea i aconsegueix mantenir els valors d'hemoglobina i eritròcits estables, tot i que els continua tenint molt baixos.

El fet que els reticulòcits ascendeixin i descendeixin regularment durant els últims dos anys no té res a veure amb la malaltia sinó que són mostres de les infeccions que ha patit el pacient durant aquest període. Els pics reticulocitaris finals mostren moments d'infecció de l'infant.

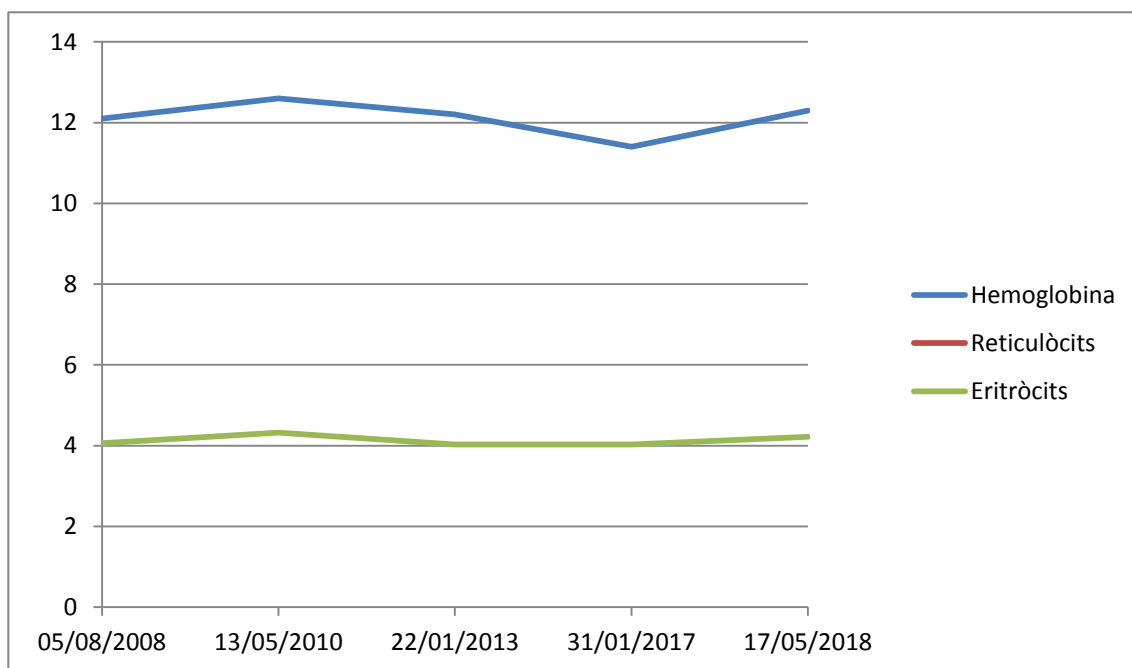


Gràfica 4 / CAS 3



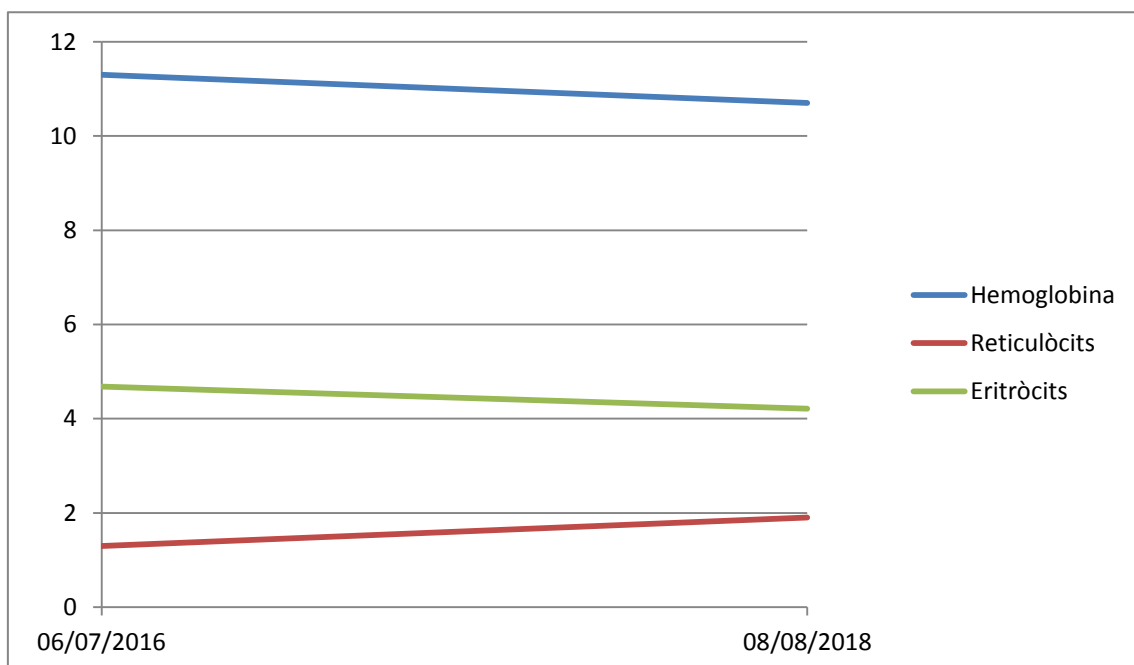
Aquest cas és una dona de 34 anys amb una heterozigosis d'hemoglobina S combinada amb una heterozigosis d'hemoglobina C; per tant, és una pacient amb HbSC. Genèticament parlant és un pacient malalt amb drepanocitosi, però el fet de tenir Hb C redueix les complicacions de la malaltia. Com es pot distingir a la gràfica, té els paràmetres totalment dins els límits i es manté estable. A més, no és anèmica. Només té una lleu disminució de l'hemoglobina al gener del 2017, que es recupera ràpidament. El recompte reticulocitari no és demanat en cap hemograma perquè, en ser tan estable, no és necessari.

És un cas sense cap tipus de complicació clínica i sense requeriment de tractament. La pacient viu amb total normalitat.



Gràfica 5 / CAS 4

L'últim cas és un nen de tres anys que està diagnosticat com a portador d'anèmia falciforme; per tant, la seva hemoglobina és S. Com s'observa a simple vista a la gràfica tots tres paràmetres representats es troben dins els valors predeterminats. A la última analítica es distingeix l'hemoglobina lleument disminuïda, però no és un factor alarmant, ja que l'hemoglobina continua estant dins els paràmetres. Com ja s'havia explicat anteriorment, els pacients portadors de la drepanocitosi no tenen complicacions clíniques, no són anèmics i el seu hemograma és perfecte, sense alteracions.



Gràfica 6 / CAS 5

### **3.6 DISCUSSIÓ**

Tal i com hem observat durant el treball, la necessitat dels algorismes diagnòstics per diagnosticar i tractar anèmies és essencial. La dificultat principal relacionada amb l'estudi dels pacients amb anèmia falciforme és diagnosticar-los mitjançant els mètodes diagnòstics. És la fase del procés més crítica perquè, si no són nadons que s'han detectat amb un programa de detecció perinatal, són pacients que venen sense massa informació i, sovint, sense antecedents coneguts.

Una vegada el pacient està determinat com a drepanocític, el procés que segueix no és complex. Es tenen clares les proves que s'han de dur a terme i els resultats són a la consulta per comunicar al pacient amb només una setmana de temps. Mentre que, en la segona part, la fase de detecció, pot ser llarga, sobretot si els malalts procedeixen d'altres països sense controls analítics. Per tant, des d'aquest punt de vista, l'estudi m'ha demostrat la importància de la identificació precoç dels casos anèmics falciformes. Així doncs, valorant la dificultat en relació als beneficis, val molt la pena desenvolupar i utilitzar un procés diagnòstic adequat per determinar els casos patològics.

Aquesta gran utilitat dels processos també es veu reflectida en els resultat actuals, els que s'han estudiat al projecte. Tenim dos pacients que han aconseguit superar l'etapa infantil i resistir l'inici de l'etapa adulta, fet vist com a impossible durant al període previ al desenvolupament diagnòstic.

Segons la definició d'anèmia de l'OMS: "Quantitat d'hemoglobina insuficient per satisfer les necessitats del cos segons el sexe, la raça i l'edat", es tracta la patologia de forma molt general, sense valors específics. És la patologia relacionada amb la sang més freqüent al món i, sovint, passa totalment desapercebuda. En canvi, havent pogut treballar amb la realitat de l'estudi de les anèmies, he observat que és tot el contrari. Tot es basa en paràmetres limitats per marcadors numèrics i cada pacient és un cas completament diferent a un altre.

Així doncs, com hem dit, el diagnòstic es fomenta amb taules de valors que indiquen si els paràmetres estudiats als pacients es troben dins els límits segons l'edat i el sexe, corresponents. Tot i que, entès teòricament, aparenta ser simple -ja que només hi ha una taula i sembla que, seguint els valors d'aquesta, ja obtinguem l'estat del pacient- a la pràctica he pogut comprovar que és a l'inrevés. Cada pacient és un cas completament diferent als altres, que s'ha d'investigar amb precisió per aconseguir-ne el diagnòstic acurat. Aquest caràcter

complex de l'estudi de les anèmies el vaig veure representat molt clarament durant l'apartat 3.5.1, en el qual tot i utilitzar la taula cada cas era únic.

El procés diagnòstic s'inicia determinant que el pacient té algun caràcter marcador de complicació anèmica. A partir d'aquí es realitza l'hemograma per destriar quin tipus de patologia pateix. Com hem explicat prèviament, quan apareix un recompte reticulocitari disminuït, parlem d'una anèmia arregenerativa i, quan aquest és elevat, tenim un cas d'anèmia regenerativa. Les primeres, conegudes com a carencials, també es divideixen, com ja s'ha analitzat prèviament. Dins el segon tipus, les regeneratives, trobem les hemolítiques i les hemoglobinopaties. Aquestes últimes són el grup de les quals forma part l'anèmia falciforme. El procés que es realitza per arribar a identificar que l'anèmia del pacient és una hemoglobinopatia és la fase complexa que ens permet passar a la segona part, que és la que ens aporta solucions.

Aquest període consisteix a confirmar que el tipus d'hemoglobinopatia que sospitem que té el pacient és la correcta. Per assolir aquest fase s'utilitzen tres tècniques explicades anteriorment. Primer l'HPCL, seguidament l'EFC i finalment, si ens surt diagnosticat com a malalt o portador drepanocític i es troba en període fèrtil, el consell genètic.

De l'últim apartat pràctic realitzat (3.5.2) podem extreure'n l'exemple clar de l'heterogeneïtat dins la pròpia malaltia. Tot i que tots els casos pateixen el mateix cas genèticament, és a dir, la presència d'hemoglobina SS, en la realitat és molt diferent.

El pacient 1, el d'edat major i alhora el més greu, ha passat etapes duradores inestables degut a la seva intolerància al tractament. Actualment sobreviu amb l'últim recurs disponible com a tractament, l'afèresi (transfusions).

La pacient 2, d'edat adulta, és molt estable, tot i estar dins els paràmetres patològics. El tractament amb hidroxiurea, que en el cas 1 havia resultat ser una catàstrofe, és la solució per mantenir l'estabilitat de la pacient dos.

També cal destacar que la fermesa de la pacient 2 també és deguda a que va ser diagnosticada de molt petita i ha estat tractada des del primer moment, com ja s'havia mencionat anteriorment; mentre que el cas 1 va ser diagnosticat de forma més tardana. Aquesta característica ens permet tornar a ressaltar la repercussió del diagnòstic.

El tercer estudi, el que mostra un nen, és bastant inestable, degut a la seva reduïda edat, i tot i ser tractat amb hidroxiurea. En el seu últim hemograma (representat al gràfic) s'hi pot observar una pujada de reticulòcits, possiblement determinant una infecció. En el cas d'un nen de la seva edat, aquest paràmetre no marcaria cap complicació greu, però en el seu estat és necessari un estudi molecular d'agents infecciosos. Això és degut a que qualsevol fet pot agreujar les complicacions i començar a generar crisis drepanocítiques, que són dificultats que l'infant encara no pateix.

Els resultats de l'estudi determinen que el nen té el virus de l'herpes 4, que és el causal de síndromes mononucleosics (infeccions víriques que s'autolimiten). Tot i ser una infecció comú, en el seu cas requereix un avís urgent al pediatre, per tal que la comuniqui al pacient i prengui les mesures conseqüents. En pacients pediàtrics normals no acostuma a resultar en problemes més enllà de febre, mal estar general i irritabilitat. En nens com el pacient estudiat pot ser causal d'una crisi o una desestabilització del seu estat general.

Finalment, el quart estudi és una pacient amb HbSC que també genera una gran reacció, perquè tot i tenir un al·lel drepanocític, el fet de combinar-lo amb un al·lel C fa que la pacient no pateixi complicacions clíniques ni tingui necessitat de tractament. Tot i això ha de rebre un estudi genètic per observar exactament on es produeix la mutació i poder-la controlar, perquè no se sap com podria reaccionar en estar en contacte amb altres dificultats.

Així doncs, hem experimentat que tot i que tots els malalts han tingut el mateix diagnòstic genètic, cada un d'ells té unes probabilitats de vida, una reacció al tractament i una etapa del desenvolupament de la malaltia molt diferents.

Malgrat sembli una cosa poètica i sovint retòrica, el fet de treballar amb temes com aquest et permet veure com la medicina no només estudia i tracta malalties, no només cura o resol estats patològics, el que fan la medicina i el metge és tractar pacients que tenen una situació patològica que els fa més vulnerables davant de certes situacions i, molt sovint, els provoca malestar i canvis en les seves vides personals.

## 4. CONCLUSIONS

Valorant el treball, puc considerar que els resultats obtinguts eren els esperats. Tot i haver hagut de fer canvis durant la creació de la idea que tenia en ment inicialment, aquests han estat per assolir una millora. Entre aquests per exemple, m'agradaria destacar l'apartat 3.5.2. Inicialment, tenia molt clar que volia realitzar una valoració de diferents casos d'afectats comparant-los entre ells, però no havia pensat en cap moment en utilitzar gràfics per assolir-ho. Tot i això al pensar en la gran diferència que s'observaria als gràfics en els diferents casos i amb la facilitat d'entendre la informació que m'interessava a través d'ells, no vaig dubtar en realitzar aquest canvi i introduir-los dins el meu treball.

Mirant el projecte des d'un punt de vista del que s'ha aconseguit, estic satisfeta. Rellegint la pluja d'objectius inicials ara, al final, puc veure que tots s'han complert. Ara, després d'aquest estiu puc dir que sóc una petita experta en la malaltia, sé perquè passa, qui la pateix, per on està expandida, quines conseqüències té, on va ser originada...entre d'altres coses. A més a més en conec la fase diagnòstica molt clarament i no només de forma estudiada sinó també manipulant-la. A més el fet d'estudiar un tipus d'anèmia, m'ha portat també a descobrir les altres classes existents i la seva classificació que també eren objectius inicials del meu treball. No només això, sinó també la meta de comprovar si jo, una alumna de batxillerat podia realitzar un diagnòstic de la malaltia ha estat complerta també. Cal destacar que no només ha set un, sinó cinc de drepanocitics i onze d'anèmics en general. He acabat sorpresa per aquesta facilitat d'aconseguir-ho que es basa en la constància i l'interès i no té res a veure en que el procés sigui simple, al contrari.

També m'agradaria destacar una altra de les fins assolides, descobrir la realitat de la malaltia a través del tracte amb els pacients. Inicialment aquest objectiu formava part de la meva llista, però durant el treball va trontollar la idea de poder-lo assolir. Vaig tenir diversos inconvenients que em dificultaven l'estada a l'hospital degut a que havia de realitzar-se durant el mes d'Agost i la normalitat és fer-ho durant el Juliol. Tot i que això va fer-me patir durant un temps perquè jo creia que aquesta part de contacte real l'havia d'experimentar per tal de transmetre la informació de la malaltia i els malalts de forma correcta, vaig aconseguir solventar-ho. Així doncs, aquesta fase m'ha permès assolir un altre dels meus objectius, però ahora escriure de forma subjectiva sobre la malaltia tot intentant plasmar la realitat.

Un cop acabat el treball, he pogut verificar que tot i que l'anèmia de cèl·lules falciformes representa una patologia minoritària dins la gran quantitat de complicacions existents, la importància dels seu diagnòstic és rellevant. Assolint-lo adequadament i utilitzant el consell genètic es poden evitar nous casos d'afectats, fet que seria considerablement important perquè els pacients patològics no tenen unes condicions de vida tolerables ni una longevitat normal ni un desenvolupament de les capacitats mentals adequat. A més en els casos ja existents, la millora diagnòstica permet detectar-los abans i habilitar l'aplicació del tractament als pacients des d'un origen i així allargant la seva longevitat.

Inicialment jo veia el diagnòstic com la part amb menys importància de l'estudi de qualsevol malaltia ja que creia que els tractaments era l'essencial. Actualment, després de realitzar aquest projecte veig que no és així, és tot el contrari. No es pot assolir cap objectiu sense haver diagnosticat la patologia prèviament i la tardança del diagnòstic determina en molts casos la longevitat del pacient.

Com que he descobert que és un sector que realment m'interessa molt, m'he adonat que l'augment de la pràctica i per tant l'increment de la seguretat són proporcionals amb l'entusiasme de continuar investigant. Ara, m'agradaria poder tenir l'oportunitat de fer un seguiment dels cinc casos en que més m'he centrat perquè no només els veig com a punts d'interès per aquest estudi, sinó els veig com a pacients patològics amb una evolució. Així doncs, si aquest projecte seguís endavant estaria encantada de seguir l'estudi d'aquests malalts, controlar la seva longevitat i desitjar no veure'ls-hi el final que prediu la malaltia.

Personalment estic molt feliç d'haver escollit aquest com a tema definitiu del meu treball perquè m'ha permès entrar totalment dins el sector mèdic i deixar-me convèncer que aquest és el meu àmbit. També m'ha fet veure la pressió que determina la professió, amb només pocs dies de seguiment dels pacients i un únic contacte amb alguns d'ells, he pogut sentir que ja no només estava parlant d'ells com a casos patològics sinó que ja els veia com a persones i els seus estats em generaven un sentiment. A més, gràcies al projecte he confirmat les meves sospites no només de si m'agradava el sector, sinó també de quina branca em desperta més la curiositat. El treball m'ha aclarit que m'atrau molt més el món mèdic de tracte amb el pacient que no l'estudi mèdic als laboratoris. Així doncs, puc concloure el treball dient estic molt orgullosa del tema i dels objectius escollits, no només pel que he après sinó per l'entusiasme que m'ha despertat. És un sector que m'ha captivat i potser fins i tot dedicar-hi els anys d'ocupació de la meva vida.

## 5. BIBLIOGRAFIA

M NOVELLI, E; T GLADWIN, M; KIRSHNAMUTI, L. "Sickle cell disease" Chapter 6. Hematology. *Conn's current theraphy 2018*

MUÑOZ TRIANO, E; JIMÉNEZ MURILLO, L; CALDERÓN DE LA BARCA GÁZQUEZ, J.M; MONTERO PÉREZ, J. "Hematimetría". Capítulo 4. *Medicina de urgencias y emergencias. Guía diagnóstica i protocolo de actuación 4º edición. Elsevier (2009).*

HEBBEL, R; VERCELLOTTI, G. "Pathobiology of sickle cell disease". Chapter 41. *Hematology: Basic Principles and Practice. 7 edition. Ronald Hoffman (2018)*

STELER-STEVENSON, M; CHERIAN, S; YUAN, C. "Flow cytometry". Chapter 5. US National Library of Medicine National Institutes of Health.

TORRENT ESPAÑOL, MOTSERRAT. "Interpretación del hemograma y de las pruebas de coagulación". *9º curso actualización pediatría (2012).*

PEREIRA MAÑÚ, M; BENEITEZ PASTOR, D; BLANCO, A. "Biología molecular en el diagnóstico de las hemoglobinopatías".

PANIZO, C; RIFÓN, J. "El laboratorio en las enfermedades hematológica". Capítulo 29. *Balcells. La clínica i el laboratori. 22ª edición. Masson (2015)*

GAIJAR, R; JALAZO, E. "Hematología". Capítulo 14. *Manual harriet lane de pediatría. 20ª edición. 2015*

STEINBERG H, M. "Sickle cell disease and other hemoglobinopathies".Chapter 163.*Goldman cecil medicine. Elsevier (22nd July 2011)*

SERRANDO, M; JIMÉNEZ, O; MARULL, A. "Diagnòstic i seguiment de les anèmies al laboratori". Laboratori hematologia i coagulació. *Programa formatiu d'anàlisis clíniques. Hospital Universitari de Girona Docor Josep Trueta.*

RAMIS BORQUE, J. "Interpretación del hemograma pediátrico". *Sesión de pediatría hospital del mar. (2013-2014)*



CHOPIN DOROTEO, M. “Principios básicos de electroforesis capilar: técnica analítica de separación de analitos”. *Tecnología en salud*. Vol 1. Núm 2. Setembre-Deseembre 2012

“Cromatografía líquida de alta resolución”. Capítulo 2.

<http://tesis.uson.mx/digital/tesis/docs/19630/Capitulo2.pdf>

RIBEIRO, L; MAGALHAES, T; SEVILLA NAVARRO, J Y 36 MÁS. “Eritropatología.

Edición 1. Ambos Marketing Services, S.L. 29 de julio de 2017.