Anexo VII. Drepanocitosis, anemia o enfermedad de células falciformes (AF o ECF) y otras hemoglobinopatías estructurales.

Protocolo de Cribado

Nombre de la prueba: Detección de hemoglobina S y otras variantes (C, D y E) en sangre impregnada en papel.

Método analítico: Cromatografía líquida de alta resolución de intercambio catiónico (HPLC).

El tiempo de retención, característico de cada variante, es el tiempo que transcurre desde que se inyecta la muestra hasta que se obtiene el punto máximo de cada pico. La detección se realiza espectrofotométricamente a una longitud de onda de 415/690 nm.

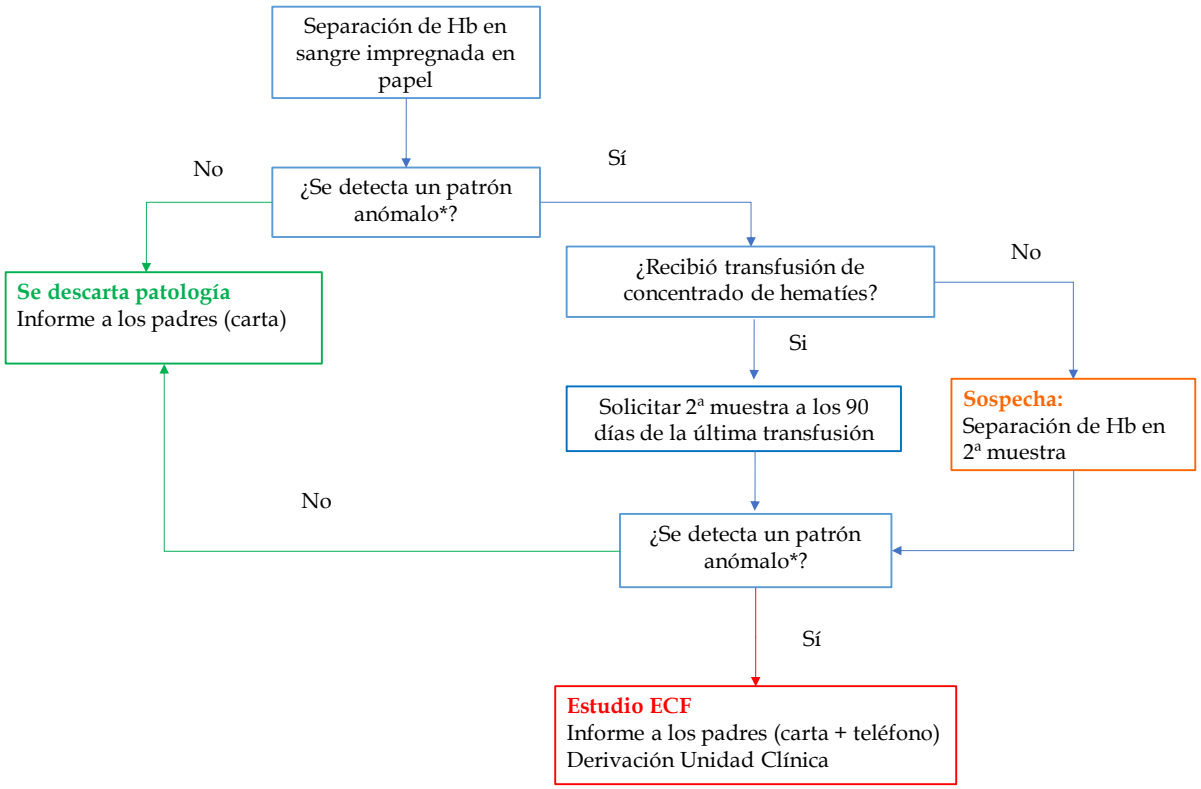
Limitación de la técnica:

- La técnica HPLC utilizada permite la separación de las variantes estructurales de la hemoglobina más frecuentes F, A, S, D, C y E, así como otras variantes menos frecuentes.
- Los RN prematuros pueden presentar falsos negativos debido a que presentan valores muy bajos de hemoglobina adulta en el momento del nacimiento.

Punto de corte:

- Se trata de una detección cualitativa. La identificación se basa en el tiempo de retención característico de cada tipo de Hb. El límite de detección de hemoglobinas S, C, D y E es el 1% del área total de la muestra, cuando esta es al menos de 750000 uV x seg.
- La presencia de un patrón anómalo se identifica tras aplicación de reglas de patrón que eliminan interferencias por otros posibles picos minoritarios (productos de degradación, derivados glicados o carbamilados, entre otros).

Algoritmo:



*** Patrones anómalos objeto del cribado**

Patología: anemia hemolítica crónica

FS, FSC, FSD: Drepanocitosis

FSA: Rasgo drepanocítico + talasémico (S>50% A)

Patología: anemia hemolítica leve

FC, FD o FE: Hemoglobinopatías C, D o E

Patología: posible anemia leve (Recomendaciones generales y consejo genético)

FAS: rasgo drepanocítico

FAC, FAD, FAE: Rasgos de hemoglobina C, D o E

Otros patrones identificables como consecuencia del cribado

Patología: Talasemia major

F (beta 0-beta 0)

Transfusión: AF

Repetición de la prueba en la misma muestra para verificación:

- Cuando el test de cribado sea positivo, tanto si se trata de un patrón homocigoto como heterocigoto, el laboratorio de cribado repetirá la determinación en la misma muestra; en el caso de que ésta no sea suficiente, se solicitará nueva muestra por el procedimiento habitual.

Comunicación de resultados:

- El laboratorio de cribado comunicará el resultado normal a los padres, o el resultado alterado a la unidad clínica de seguimiento, tras realizar la segunda determinación.
- El laboratorio de cribado derivará a la unidad de seguimiento clínico a los bebés con test positivo (homocigotos y heterocigotos) por vía telefónica.
- Teniendo en cuenta que vamos a considerar confirmatorios los resultados de la segunda prueba en sangre de talón, el laboratorio de cribado acompañará la comunicación telefónica con un Informe escrito, enviado a la dirección corporativa de correo electrónico de la unidad clínica que corresponda.

Protocolos de Confirmación Diagnóstica e Intervención Inicial

Método de Diagnóstico de confirmación:

Pruebas en el RN para casos sospechosos de enfermedad:

- Hemograma con perfil reticulocitario
- Cuantificación de hemoglobina mediante Electroforesis capilar.
- La confirmación de cualquier variante diagnosticada se realizará mediante genética molecular. El estudio genético podría posponerse hasta que tenga más edad.

Pruebas en el RN en caso de sospecha de estado de portador:

- Se considerarán confirmados con el resultado de la segunda determinación en sangre de talón, junto con el resultado del estudio a los progenitores.

Pruebas a los progenitores (se citarán en consulta de eritropatología de adultos):

- Hemograma con perfil reticulocitario
- Electroforesis capilar Hb
- En caso de que ambos progenitores sean portadores, se derivarán a la consulta de Genética Clínica con carácter prioritario, para estudio familiar (genética molecular) y asesoramiento.

Electroforesis capilar de zona:

- Consiste en una electroforesis en "solución libre", que permite separar proteínas bajo la influencia de un campo eléctrico, en función de su relación masa/carga, teniendo en cuenta el efecto de la fuerza iónica, el pH del tampón y la naturaleza del soporte. Las variantes de la hemoglobina son debidas a mutaciones de algunos aminoácidos, que implican cargas de superficie diferentes y, por consiguiente, presentan diferentes movilidades al ser sometidas a una electroforesis de zona.
- En la electroforesis capilar de zona basta con utilizar un tampón alcalino para detectar las variantes más habituales. Además cuantifica mejor la HbA2 que el gel de agarosa y no se afecta por la presencia de ciertas variantes como sucede con HPLC.
- El método permite cuantificar la HbA, A2, F, S, C, D y E, así como la Hb Bart.

Una fracción anormal de HbS indica un rasgo drepanocítico, con fiabilidad superior al 90% y al 100% si se obtiene un test de falciformación positivo

Tras la confirmación diagnóstica del caso, la misma Unidad de Hematología Pediátrica estudiará a los padres (Electroforesis capilar + Hemograma).

Valores de Hb por electroforesis capilar:

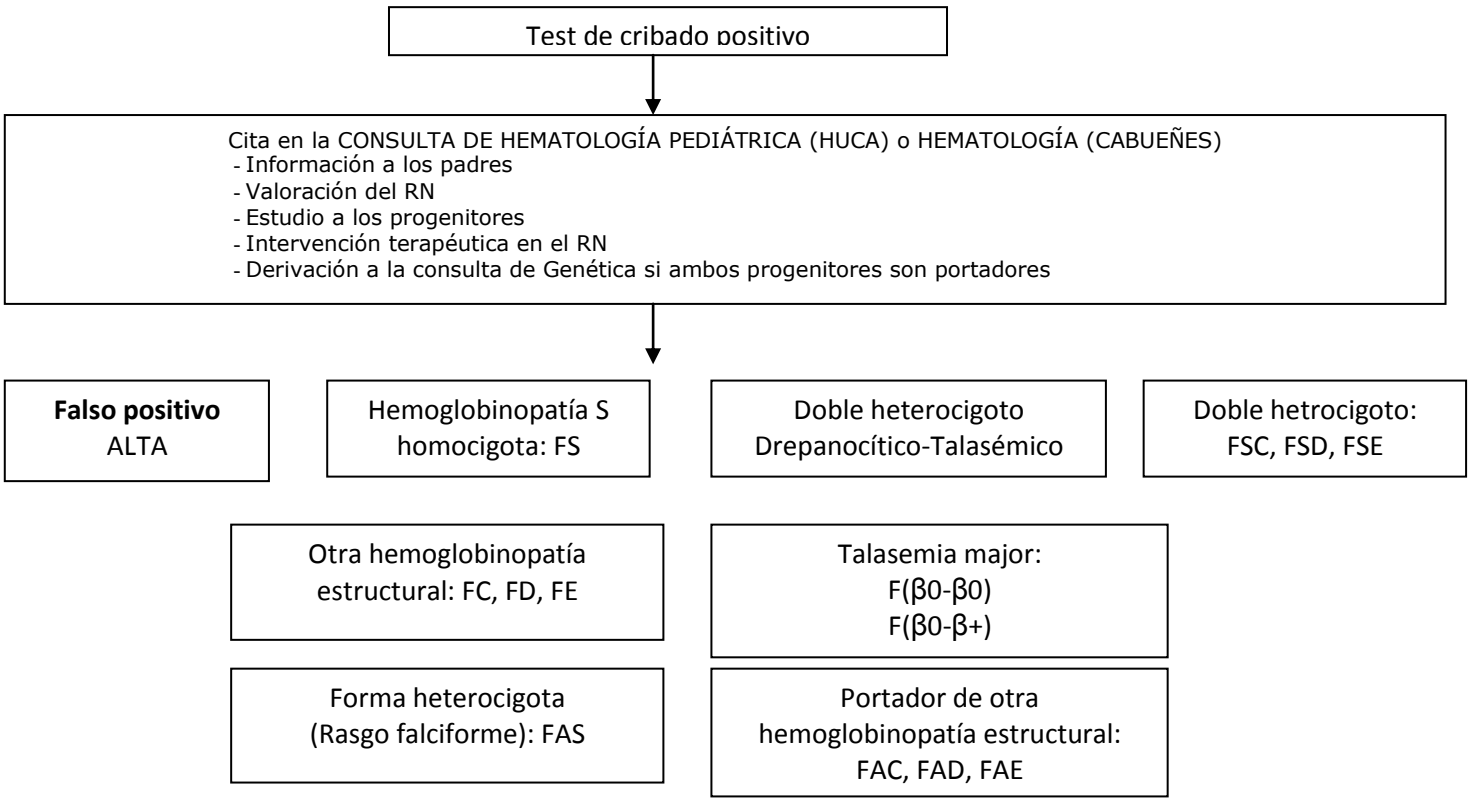
Edad	N	Hb A%*	HbF%*	HbA2 %*
0 - 6 días	47	4.7 - 24.3	79.4 – 97.9	0.0 – 0.0
7 - 14 días	17	6.6 - 38.3	66.0 – 98.4	0.0 – 0.4
15 - 45 días	28	8.1 - 62.7	49.9 – 98.4	0.0 – 1.8
45 días – 3 meses	32	37.3 – 88.8	10.3 - 64.6	0.3 – 2.4
3 - 6 meses	29	67.0 – 96.7	5.2 – 34.5	1.7 – 2.7
6 - 9 meses	21	82.4 – 98.8	1.1 – 28 .5	2.0 – 3.0

* p2.5 – p 97.5

INTERVENCIÓN INMEDIATA TRAS EL DIAGNÓSTICO

1. Intervención en caso de diagnóstico de enfermedad: Establecimiento de medidas profilácticas en el RN y pauta de seguimiento.
   - La vacunación a los RN nacidos con anemia falciforme o con cualquier otro patrón de hemoglobina susceptible de producir asplenia funcional, se debe *iniciar a los 2 meses de vida*, según el calendario oficial de vacunaciones de Asturias vigente.
   - Las medidas profilácticas se deben establecer *a partir de los 3 meses de vida*, conforme a las recomendaciones de la SEHOP.
2. Intervención en caso detección de portadores: Información a los progenitores sobre la condición, recomendaciones y Alta del RN.
3. Consejo genético a los progenitores:
   - Se realizará ante el diagnóstico en el RN del estado de enfermo o portador.
   - En caso de que ambos progenitores sean portadores se solicitará consulta a Genética para estudio genético familiar y asesoramiento, antes de que se produzca una nueva gestación, con el objeto de poder ofrecerles diagnóstico prenatal.
4. Adicionalmente, se ofrecerá estudio familiar a los hermanos del RN.

Algoritmo diagnóstico:



Definiciones de Caso:

1. **Forma homocigota o enfermedad de células falciformes (HbSS)**: la mutación afecta a los 2 alelos del gen que codifica la cadena β: genotipo βS / βS. En estos casos, prácticamente toda la Hb (75-95%) es HbS, siendo el resto (5-15%) HbF.
2. **Forma doble heterocigota (HbS-Tal)**: en el paciente coexisten 2 alelos anormales del gen de la cadena β, uno presenta la mutación de la HbS y el otro una mutación de β-Talasemia. Si la síntesis a nivel del gen talasémico es nula (ß0-tal) la cantidad de HbS será prácticamente la misma que en el estado homocigoto (70-90%). Si, por el contrario, solo presenta una disminución en el gen talasémico (ß+- tal) se observa la coexistencia de HbA (10-30%), HbS (60-85%), y una pequeña proporción de HbF (5%).
3. **Forma doble heterocigota (HbSC):** en el paciente coexisten 2 alelos anormales del gen de la cadena β, uno presenta la mutación de la HbS y el otro la mutación de la HbC: genotipo βS/βC. No existe HbA y presenta cantidades similares de HbS y HbC (50%).
4. **Forma doble heterocigota HbSD, HbSE:** Igual que en la anterior, con la mutación HbD ó HbE.
5. **Talasemia major F(β0-β0):** Beta talasemia homocigota, beta-talasemia mayor o enfermedad Cooley: La síntesis de cadenas beta de globina se encuentra disminuida o ausente y los pacientes presenta un 95-98% de HbF con disminución de Hb A2 y ausencia de Hb A.
6. **Forma heterocigota de AF o Rasgo falciforme (Portador sano, HbAS)**: la mutación afecta a un solo alelo de los dos que codifican la cadena β: genotipo βA / βS. Los pacientes presentan un 30-40% de HbS.
7. **Forma heterocigota de otra hemoglobinopatía estructural (Portador HbAC, HbAD, HbAE)**

Descripción de la enfermedad

Nombre de la enfermedad: Anemia Falciforme. Drepanocitosis. Enfermedad de células falciformes. Hemoglobinopatía_S. *OMIM: 603903*
Tipo de deficiencia o trastorno metabólico: Hemoglobinopatía.
Las hemoglobinopatías constituyen un amplio grupo de enfermedades genéticas, causantes de un alto grado de morbi-mortalidad. Son las alteraciones monogénicas más frecuentes en el mundo y siguen un patrón de herencia autosómico recesivo. Se producen como consecuencia de alteraciones cualitativas de la cadena de globina en el caso de las hemoglobinopatías estructurales, o bien por alteraciones cuantitativas en cuyo caso dan lugar a las talasemias. Puede ocurrir que ambas alteraciones coexistan, produciendo lo que se conoce como hemoglobinopatías talasémicas.
La enfermedad de células falciformes o drepanocitosis constituye la forma más frecuente y mejor conocida de hemoglobinopatía estructural. Los niños afectos de anemia falciforme, son muy susceptibles a infecciones bacterianas severas y presentan un alto grado de morbi-mortalidad.

Patogenia
La hemoglobina S (HbS) es una hemoglobina anormal originada por una mutación en el cromosoma 11, que da lugar a la sustitución de un aminoácido cargado a pH fisiológico (ácido glutámico), situado en la posición 6 de la cadena ß de la globina, por otro neutro (valina). Esta modificación de la carga superficial de la hemoglobina provoca una menor solubilidad de la Hb, especialmente en su estado reducido (deoxi-Hb), y facilita la formación de agregados fibrilares o polímeros de la molécula de Hb, que alteran profundamente la morfología eritrocitaria y aumentan su rigidez. Los hematíes deformados por este mecanismo reciben el nombre de drepanocitos y debido a su elevada rigidez, no pueden atravesar normalmente la microcirculación de los tejidos, siendo hemolizados y eliminados de la misma por los macrófagos del Sistema Mononuclear Fagocítico. Además, la escasa deformabilidad de los drepanocitos produce aumento de la viscosidad sanguínea, facilitando la formación de microtrombos y la oclusión de los pequeños vasos (isquemia y microinfartos).

Epidemiología

La enfermedad es más común en regiones en las que el paludismo es o fue endémico, ya que el estado de portador heterocigoto concede protección frente a esta enfermedad. Es especialmente frecuente en personas con antepasados originarios del África subsahariana, la India, Arabia Saudita o los países del Mediterráneo. Las migraciones incrementaron la frecuencia del gen en los países americanos, así como en algunos países europeos.

El movimiento poblacional a lo largo del mundo y su establecimiento en países distintos a los de origen, hace que debamos plantearnos la aparición de enfermedades que no eran frecuentes en nuestro ámbito geográfico.

En un estudio poblacional realizado en Asturias a partir de los registros del CMBD y de las historias clínicas de pacientes con diagnóstico de anemia falciforme entre 1996 y 2013, se identificaron 15 casos de enfermedad de las células falciformes (homocigotos, HbSS). El país de procedencia que más casos aportó fue la República Dominicana; otros seis países fueron el lugar de origen de un paciente cada uno: Angola, Brasil, Colombia, Guinea Conakri, Guinea ecuatorial y Portugal; por último, 3 habían nacido en España, pero sus padres procedían de Cuba, Guinea ecuatorial y Nigeria respectivamente. Entre 2008 y 2012 han nacido en Asturias 2 casos (2/25.208 RN totales).

Con respecto a la mortalidad, la mediana de edad del fallecimiento de los varones con anemia falciforme homocigota es de 53 años y en las mujeres de 58,5 años. En cuanto a la mortalidad infantil, en las *Directrices para el control de las hemoglobinopatías* elaborado por la OMS en 1994, se estimaba que la anemia falciforme era la responsable del 10-20% de la mortalidad infantil global en los países en vías de desarrollo. También se estimaba que en los países desarrollados, en ausencia de diagnóstico neonatal, en los primeros años de vida se morían un 10% de los niños con anemia falciforme.

Síntomas clínicos

La anemia falciforme es una enfermedad sistémica, caracterizada por la afectación vascular causada por la vaso-oclusión y por la presencia de complicaciones hemolíticas e infecciosas. Las manifestaciones clínicas más importantes de la enfermedad de células falciformes pueden dividirse en tres grupos: anemia hemolítica, síndromes dolorosos y complicaciones que afectan a órganos mayores.

Las complicaciones agudas más importantes son las infecciones, los episodios de dolor, el secuestro esplénico, el síndrome torácico agudo y los accidentes cerebro-vasculares (ACV), junto con las exacerbaciones agudas de la anemia.

Tras la confirmación clínica de la enfermedad es necesario el comienzo del tratamiento adecuado lo antes posible. En la actualidad no existe un tratamiento curativo de la enfermedad de células falciformes, por lo que el objetivo del tratamiento es evitar la aparición de las complicaciones agudas y crónicas.

Debido a la complejidad de las manifestaciones clínicas, el manejo de los niños con anemia falciforme no es fácil, por lo que se recomienda que sea abordado por unidades especializadas.

Existen numerosos protocolos de tratamiento de la enfermedad. En España existe una Guía de Práctica Clínica elaborada por la Sociedad Española de Hematología y Oncología Pediátricas (SEHOP). Los tratamientos más efectivos son el uso de antibióticos, las transfusiones de sangre, el uso de la hidroxiurea y el transplante hematopoyético.

Como consecuencia del estado de asplenia funcional, los niños con drepanocitosis tienen una importante susceptibilidad a padecer infecciones, especialmente las causadas por bacterias encapsuladas. Las septicemias por neumococo (con o sin meningitis) son la causa más frecuente de mortalidad en niños menores de 5 años con anemia falciforme. También se han descrito infecciones invasivas por *Haemophilus influenzae* o meningococo. Las infecciones pueden ser un factor desencadenante de otras complicaciones como el síndrome torácico agudo. El riesgo de infección en niños mayores de 5 años es bajo.

Debido a la presencia de hemoglobina fetal (HbF), los niños menores de 6 meses suelen presentar menos síntomas que los niños de 6-36 meses, aunque algunas complicaciones agudas graves, como las infecciones invasivas y el secuestro esplénico pueden presentarse ya a los 2-3 meses de edad. Las

crisis aplásicas y el síndrome torácico agudo pueden aparecer antes de los 2 años de edad, mientras que los ACV suelen presentarse después de los 2 años.
En los primeros años de vida también suelen producirse crisis vasooclusivas en las extremidades o las dactilitis, mientras que las crisis dolorosas a nivel de huesos largos o vértebras suelen producirse más tardíamente.
La principal causa de muerte en niños mayores de 5 años es el síndrome torácico agudo, con fiebre, dolor torácico y leucocitosis. La supervivencia guarda relación con la frecuencia de las crisis.
La morbilidad ha disminuido en las 2 últimas décadas, contribuyendo al aumento de la supervivencia tanto la implantación en regiones de alta prevalencia del cribado neonatal, como a la profilaxis con penicilina, la vacunación contra gérmenes encapsulados, el uso de transfusiones crónicas, la hidroxiurea y el trasplante de progenitores hematopoyéticos. En la actualidad la mayoría de los pacientes vive al menos hasta la edad adulta madura, y todos tienen potencialmente la posibilidad de llevar una vida productiva.
El tratamiento temprano de la enfermedad de células falciformes, posible gracias a la detección precoz, se asienta sobre dos pilares fundamentales: la prevención primaria de las infecciones (especialmente neumocócicas, causantes de una gran morbimortalidad en niños menores de 3 años) y la educación de los padres para identificar las complicaciones agudas en sus fases iniciales.

Recomendaciones de tratamiento temprano:
Los padres deben tener unas instrucciones claras sobre cuándo acudir a su pediatra de atención primaria y cuándo ir al hospital.
Tratamiento de base convencional
Ácido Fólico: Tratamiento diario 1 mes cada 3 de forma OPCIONAL, o simplemente recomendar una dieta variada rica en verdura y fruta fresca.
Penicilina (vía oral):
- Es esencial su administración de forma indefinida desde los 3 meses de vida hasta la edad de 5 años, y opcionalmente hasta la edad adulta, salvo en esplenectomizados quirúrgicos, en los que será obligatorio indefinidamente y en aquellos con infecciones recurrentes por neumococo.
- En el caso de procedimiento invasivo como extracciones dentarias se recomienda realizar una suplementación profiláctica con amoxicilina 50 mg/kg/día el día del procedimiento
Vacunas: La pauta habitual de vacunación debe ser complementada con un calendario específico, sin olvidar que muchos de estos pacientes son inmigrantes que viajarán a sus países de origen por lo que se deberá incluir la vacuna de hepatitis A así como las vacunas internacionales y/o profilaxis antimalaria dependiendo del lugar.

El ***Programa de Vacunaciones de Asturias*** establece un calendario de vacunación infantil (2023) que incluye ya la vacunación frente al neumococo, el Hemophilus influenzae tipo b, Meningococo B y C y Varicela, además de las clásicas DTP, Polio y SRP. Establece además, recomendaciones de inmunización específicas para situaciones la asplenia anatómica o funcional e hiposplenia, aplicables a los enfermos con ECF o talasemias, que en resumen consisten en añadir:
- Vacuna frente a la enfermedad meningocócica ACWY en los RN:

Vacuna	Edad 1ªdosis	Vacunación inicial	Dosis de refuerzo
MenACWY-TT	2-11 meses	2 dosis separadas 8semnas y dosis de refuerzo a los 12 meses de edad (separa, al menos dos meses de la dosis anterior)	Dosis de refuerzo a los 5 años. No se han determinado si se necesitan más dosis de refuerzo
	≥1 año	2 dosis separadas 8 semanas	
MenACWY-CRM	≥2 años	2 dosis separadas 8 semanas	

- Vacuna frente al Meningococo: en las personas mayores de dos años está indicada la administración de una dosis de recuerdo cada 5 años mientras se mantenga la condición de riesgo.
- Vacuna antineumocócica: Refuerzo con VNC13 (pauta 3+1); añadir una dosis de VNP23 a partir de los 2 años de vida y otra 5 años después; separación correcta entre dosis.
- Vacuna antigripal anual, a partir de los 6 meses de vida (ver recomendaciones específicas).

Diagnóstico diferencial de síndromes de células falciformes

Las manifestaciones clínicas dependen de la edad pero también del genotipo. Los individuos homocigotos o heterocigotos compuestos tienen enfermedad sintomática con cinco fenotipos posibles:

− ECF (HbSS), que afecta aproximadamente al 75% de los pacientes.
− ECF-Hemoglobina C (HbSC, 25% de los pacientes)
− ECF-Talasemia (menos del 1% de los pacientes), con 2 subtipos:
  - ✓ HbSβ+talasemia
  - ✓ HbSβ0talasemia
− ECF-Otras hemoglobinopatías (HbSDPunjab, HbSOArab u otras)
− Rasgo falciforme (HbAS)

Generalmente, los niños con HbSS y Sβ0-talasemia presentan más afectación que el resto de los fenotipos. Sin embargo, la variabilidad en la expresión clínica es muy marcada y difícilmente predecible. La enfermedad falciforme SC puede tener las mismas complicaciones pero generalmente es mucho más leve en sus manifestaciones y hay menos probabilidad de hipofunción esplénica.

Cuadro extraído de la Guía SEHOP 2019

SÍNDROME	Genotipo	Neonato	HbA	HbS	HbF@	HbA_2 (**)	HbC	Hb	VCM
Homocigoto	SS	FS	0	80-95	2-25	<3,5	0	6-9	80-100‡
Falciforme-β tal	Sß⁰	FS	0	80-92	2-15	3,5-7,0	0	6-10	60-75
Falciforme-HbC	SC	FSC	0	45-50	1-5	(**)	45-50	9-15	70-85
Falciforme-ß⁺ tal	Sß⁺	FSA o FS(*)	5-30	65-90	2-10	3,5-6,0	0	9-15	70-80
Rasgo falciforme	AS	FAS	50-60	35-45	<2	<3,5	0	12-15	80-94‡
Normal	AA	FA	95-98	0	<2	<3,5	0	12-15	80-94

Las cifras de HbA, HbS, HbF, HbA_2 y HbC se expresan en %, las de Hb en g/dL y son valores del adulto, y VCM denota volumen corpuscular medio y se expresa en fl (sus valores pueden ser menores si coexiste alfa talasemia).

ß⁰ indica mutación talasémica con ausencia de β globina.

ß⁺ indica mutación talasémica con reducción (pero no ausencia) en la producción de β globina.

(*)La HbA a veces en el neonato es insuficiente para detectarla.

(**) La cantidad de HbA_2 no puede medirse adecuadamente en presencia de HbC ni HbS, donde puede estar aumentada con algunas técnicas.

@ En casos raros de HbSS el nivel de Hb F puede ser bastante alto y habría que diferenciarlo de la entidad HbS-Persistencia Hereditaria Pancelular de HbF (S-HPFH), una enfermedad benigna que habitualmente no se asocia con anemia ni vasooclusión.

‡En pacientes donde coexiste con alfa-talasemia, frecuente en la población subsahariana, el VCM puede estar disminuido.