

Utilidad de la prueba de la Inulina en el diagnóstico de la Anemia Hemolítica complemento-sensible

(Hemoglobinuria Paroxística Nocturna)

DR. ALBERTO BARRANTES B.*

DR. CARLOS MONTERO U.**

DR. GERMAN F. SÁENZ R.***

La descripción clásica del cuadro clínico de la Hemoglobinuria Paroxística Nocturna (HPN), de anemia hemolítica crónica caracterizada por hemólisis intravascular, paroxística y nocturna, con hemoglobinemia y hemoglobinuria, no se observa en la mayoría de los casos (19), y en no pocas oportunidades existen manifestaciones fácilmente confundibles con aplasias medulares, anemias megaloblásticas, anemias sideroacrísticas y otras hemopatías. En la actualidad estas situaciones pueden comprenderse en gran medida si aceptamos que la HPN básicamente es el resultado de una mutación somática de la célula hemopoyética primitiva, lo cual conlleva a la producción de clones-HPN y, dependiendo del predominio de éstos sobre los clones normales, así serían las manifestaciones clínicas (1,20). A pesar de que no se conoce la naturaleza exacta del defecto en HPN, si se conocen sus efectos a través de la demostración del defecto (s) de membrana del eritrocito, así como de producción alterada de leucocitos y plaquetas (13, 19, 22).

Dado que el cuadro clínico de la enfermedad no siempre envuelve hemoglobinuria, y mucho menos paroxística y nocturna, al síndrome es mejor llamar-sele "anemia hemolítica complemento-sensible" (AHCS) (18), única condición con el rasgo distintivo de ser una anemia hemolítica adquirida con defecto intracorpúscular. A este padecimiento hematológico que antes se le consideraba raro (24), ahora con los nuevos métodos de laboratorio que facilitan la puesta en evidencia del producto del clono-HPN, se le diagnostica con más frecuencia, tanto en casos primarios como en la complicación de la anemia aplástica (—refractoria—) y de la mielofibrosis primaria con metaplasia mieloide (15).

* Laboratorio de Investigación Clínica, Hospital México, Caja Costarricense de Seguro Social.

** Servicio de Hematología, Hospital México, Caja Costarricense de Seguro Social.

*** Cátedra de Hematología, Departamento de Análisis Clínicos, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, Hospital San Juan de Dios.

Las pruebas más usadas en su diagnóstico se basan en la sensibilidad de las células HPN a la lisis espontánea mediada por C₃ (1, 6, 7, 14, 18, 19, 20, 21), como son la del suero acidificado de Ham (8), la hemólisis por sucrosa (11, 12), la prueba Crosby (3), la prueba con factor de cobra (14) y la de la lisis inmune (20).

En 1973, Brubaker et al. (2), propusieron una prueba rápida de escrutinio a base de inulina, de fácil ejecución, de bajo costo, con resultados satisfactorios, que de seguro llegará a sustituir otros métodos más complicados y en ocasiones menos sensibles y precisos para la detección de la presencia de los eritrocitos complemento-sensibles de la HPN. El defecto de membrana en la HPN permite que culmine, en gran medida, la consecuencia directa de la activación inicial del complemento. Se sabe que ocurre un incremento de la lisis de los eritrocitos complemento-sensibles, cuando el complemento es activado por anticuerpos específicos o por una vía alterna de activación de las fases terminales del complemento (1, 14, 19). En el caso de la inulina, se ha visto que esta sustancia y otras activan al proactivador C₃ que es la proteína clave en esta vía (2). El proactivador C₃ activado actúa sobre el tercer componente del complemento, el C₃, convirtiéndolo en C₃ activo, el cual desencadena la activación del remanente de los componentes terminales o tardíos del complemento, siendo la lisis de las células HPN un indicador de estas reacciones (19).

En el presente estudio se trata de hacer una comparación entre la prueba de la inulina y otras pruebas clásicas para el diagnóstico de la HPN, tomando como base diferentes entidades nosológicas, la mayoría de ellas consideradas síndromes mieloproliferativos, dentro de los que se ha querido incluir a la HPN con suficiente justificación (4). En este sentido, Gilbert (5) acota lo siguiente: La HPN puede incluirse dentro de las enfermedades mieloproliferativas en donde la anomalía de crecimiento es expresada primariamente como un trastorno de maduración, al igual que la leucemia mieloblástica aguda, la leucemia megacariocítica y la eritroleucemia. En esta trama de síndromes, la HPN encontraría un lugar lógico, ya que los caracteres de eritrogénesis displásica con eritrocitos cualitativamente anormales, la perturbación de la granulopoyesis con anomalías cualitativas en forma de disminución o ausencia de fosfatasa alcalina leucocitaria y la evolución frecuentemente observada hacia leucemia mieloblástica aguda, atestiguan la participación de la médula ósea en su totalidad.

MATERIAL Y METODOS

Se procedió a practicar en 33 pacientes previamente diagnosticados con diferentes entidades nosológicas y a uno con HPN, debidamente comprobada, la prueba de la inulina (2), y si ésta resultaba positiva, las de Ham (8) y de la sucrosa (11). En aquellos pacientes en que dio positiva la prueba de la inulina, tal y como fue descrita por los autores (2), se practicó un sencillo experimento efectuando la misma prueba a diferentes temperaturas (4,22 y 37°C), así como con citrato de sodio en idénticas condiciones de incubación.

RESULTADOS

En el cuadro 1 se señalan las entidades nosológicas que formaron parte del presente estudio.

CUADRO 1

ENTIDADES NOSOLOGICAS ESTUDIADAS

Anemia aplástica	16
S. mieloproliferativos*	3
Anemia refractaria	2
Anemia ferropénica	2
PTI	2
Anemia hemolítica**	2
E. de Hodgkin	2
AHCS (HPN)	1
LLA	1
CA indiferenciado	1
LED	1
Anemia de Fanconi	1
TOTAL	34

* LMA, PV y LMC.

** Beta talasemia menor A₂ y anemia alfa metil dopa sensible.

Los resultados de la ejecución de la prueba original de la inulina a diferentes temperaturas y con citrato nos permitió obtener una buena información pues fue a la temperatura de 37°C a la cual ambas pruebas ofrecen la mayor positividad, siendo más conspicua la hemoglobinemia con el método de la inulina.

El paciente conocido de tener una HPN dio positivas las tres pruebas llevadas a cabo. Dos pacientes con anemia aplástica dieron positivas las pruebas de la inulina y de la sucrosa, pero negativa la de Ham, por lo que se clasificaron como portadores del clono HPN. El resto de los pacientes consignados en el cuadro 1 dieron negativa las tres pruebas realizadas.

Una paciente con anemia aplástica en remisión de 1 año dio la prueba de la inulina débilmente positiva, procediéndose a ejecutar las otras dos con idénticos resultados en varias ocasiones que se llevaron a cabo.

DISCUSION

La introducción en el repertorio del laboratorio clínico de la prueba de la inulina ha simplificado y facilitado definitivamente el diagnóstico de la AH crónica complemento-sensible (—HPN—), en todas sus manifestaciones tan pleomórficas.

Por los resultados obtenidos se pone de manifiesto la utilidad de esta prueba pues permitió diagnosticar dos pacientes con anemia aplástica en los que por repetidas pruebas de Ham no fue posible llegar al diagnóstico concluyente de la complicación HPN.

Aunque en ciertas circunstancias puede ser difícil el establecer que un paciente en particular tenga el defecto clínico de HPN o un trastorno eritrocítico tipo anemia HEMPAS (anemia hereditaria eritroblástica multinuclear Ham positiva), que lleve a una prueba anormal de laboratorio (23), creemos que los casos con inulina y sucrosa positivas, pero Ham negativas, de muestra casuística, corresponden sin duda alguna HPN por sus manifestaciones clínicas y hematológicas.

Hansen y Killman (10), habían notado que algunos casos de HPN daban la prueba de Ham negativa y la prueba de la sucrosa positiva, teniendo el paciente signos clínicos compatibles con HPN, lo que demuestra que la prueba de Ham es menos sensible que la de la sucrosa y de la inulina, tal y como lo ha demostrado Rosse (20) con la prueba de la lisis inmune en relación al Ham. Asimismo, Hansen (9) ha comprobado, a diferencia de Hartmann (12), que la prueba estándar de la sucrosa es más sensible que la presuntiva del agua de azúcar. A idénticos resultados llegaron Kuo et al. (15), tanto en lo que se refiere a la prueba de Ham como a la estándar de la hemólisis por sucrosa. El hecho de que un paciente nuestro con anemia aplásica recuperada haya dado las tres pruebas débilmente positivas —repetidas en varias ocasiones y sin recibir transfusiones desde hacía más de un año—, nos asegura que este paciente presentaba un clono-HPN con un porcentaje inicial de células HPN muy pequeño y por lo tanto hemólisis crónica leve, ya que fue estudiada con otros parámetros dando los siguientes resultados: Hb 11 g%, reticulocitos corregidos de 4.2%, hemoglobinemía 18.1 mg/dl, hemosiderina en orina positiva (++) y haptoglobinas séricas de 0 mg/dl.

Se sabe que el pronóstico de la anemia aplásica es aún malo, por lo que la aparición de otra entidad como la HPN, por sí misma bastante severa, parecería aumentar el pesimismo en cuanto al futuro de estos pacientes; sin embargo, el hecho de que se desarrolle HPN durante la recuperación de la anemia aplásica y que en ocasiones solo sea evidente como un defecto pequeño, permite abrigar ciertas esperanzas en cuanto a la evolución de estos pacientes. No obstante la aparición de cuadros severos de HPN trae implícita sus propios riesgos y complicaciones, siendo de esperar también en estos casos, un pronóstico desfavorable (17).

Como corolario al tema, cabe destacar la conveniencia de ejecutar la prueba que preconizamos en todas las aplasias medulares, anemias hemolíticas, pancitopenias y en toda anemia de naturaleza poco clara (16).

Asimismo, en caso de ser negativa, se recomienda practicarla varias veces durante el transcurso de las entidades hematológicas antes mencionadas, así como de cualesquiera otras de dudosa etiología, con el objeto de descartar la presencia de una HPN en forma definitiva.

R E S U M E N

Se hace un breve análisis sobre las características de la AHCS (HPN) y sobre el fundamento de la prueba de la inulina. Esta última se practicó a manera de escrutinio en 34 pacientes con diversos padecimientos hematológicos y no hematológicos. Se concluye que la prueba de la inulina es de gran valor en el diagnóstico de la AHCS (HPN), ya que parece ser bastante específica para esta enfermedad, siendo más sensitiva que la prueba de Ham, de más fácil ejecución y de menos costo.

Con respecto a la prueba del agua de azúcar se destaca su valor en nuestro estudio como procedimiento de rastreo, a pesar de las discrepancias que sobre su sensibilidad y precisión se señalan en la literatura.

SUMMARY

We make a short analysis about the characteristics of the CSHA (HPN) and about the fundament of the inulin test. This was practiced in 34 patients with diverser hematologic and non hematologic diseases. We came to the conclusion that the inulin test is of great help in the diagnosis of the CSHA (HPN), because it seems to be very specific to this disease, and more sensitive than the HAM test, of ease execution and very cheap. With respect to the sugar water test has been emphasized the value in our study as screening test, in spite of the discrepancy about the sensitivity and precision that there are in the literature.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—ANGULO, P., RECIO, M., ARRATIBEL, A., CUESTA, B., NJENGA, G. y LÓPEZ-BORRASCA, A.
La prueba de la inulina como nuevo método de "screening" para el diagnóstico de la Hemoglobinuria Paroxística Nocturna. *Sangre*, 18:519, 1973.
- 2.—BRUBAKER, L. H., SCHBERG, D. R., JEFFERSON, D. H. & MENGEL, C. E.
A potencial rapid screening test for Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. *N. Eng. J. Med.*, 288:1059, 1973.
- 3.—CROSBY, W. H.
Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria: A specific test for the disease based on the ability of thrombin to activate the hemolytic factor. *Blood*, 5:843, 1950.
- 4.—DAMESHEK, W.
Foreword and a proposal for considering Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria (P.N.H.) as a "candidate" myeloproliferative disorder. *Blood*, 33:263, 1969.
- 5.—GILBERT, H. S.
El espectro de los trastornos mieloproliferativos. Págs. 355-393. En *Clínicas Médicas de Norteamérica: Signos Clínicos de enfermedades de la sangre*. Vol. 57, N° 2. Interamericana, 1973.
- 6.—GÖTZE, O. & MÜLLER-EBERHARD, H. J.
Lysis of erythrocytes by complement in the absence of antibody. *J. Exp. Med.*, 132:898, 1970.
- 7.—GÖTZE, O. & MÜLLER-EBERHARD, H. J.
Paroxysmal Nocturnal Haemoglobinuria hemolysis initiated by the C₃ activator system. *N. Eng. J. Med.*, 286:180, 1972.
- 8.—HAM, T. H.
Chronic hemolytic anemia with Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. *Arch. Int. Med.*, 64:1271, 1939.
- 9.—HANSEN, N. E.
The sucrose haemolysis test in Paroxysmal Nocturnal Haemoglobinuria. *Acta Med. Scand.*, 184:543, 1968.
- 10.—HANSEN, N. E., & KILLMANN, S. H.
Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria in Myelofibrosis. *Blood*, 36:428, 1970.
- 11.—HARTMANN, B. C. & JENKINS, D. E.
The "sugar water" test Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. *N. Eng. J. Med.*, 275:155, 1966.
- 12.—HARTMANN, B. C., JENKINS, D. E. & ARNOLD, A. B.
Diagnostic specificity of sucrose hemolysis test for Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. *Blood*, 35:462, 1970.
- 13.—HARTMANN, B. C., & KRANTZ, S. B.
Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria and pure red cell aplasia. Two rare anemias with immunologic implications. *Postgrad. Med.*, 55:141, 1974.

- 14.—KABAKCI, T., ROSSE, W. F. & LOGUE, G. L.
The lysis of Paroxysmal Nocturnal Haemoglobinuria red cells by serum and cobra factor. *Brit. J. Haemat.*, 23:693, 1972.
- 15.—KUO, CHI-YEN, VAN VOOLEN, G. A. & MORRISON, A. N.
Primary and secondary myelofibrosis: Its relationship to "PNH-like defect". *Blood*, 40:875, 1972.
- 16.—MILLER, D. R.
Valoración de la hemólisis en el laboratorio. Cap. I, art. 5, 65-87 pp. En: Weed, R. I. et al., *Hematología para Internistas*. 1ª Ed. Esp. Ediciones Toray, S. A., 1973.
- 17.—PAREDES, R., JIMÉNEZ, R. & DORANTES, S.
Síndrome anemia refractaria Hemoglobinuria Paroxística Nocturna. *Bol. Méd. Hosp. Infant.*, 26:615, 1969.
- 18.—ROSSE, W. F.
The life-span of complement-sensitive and-insensitive red cells in Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. *Blood*, 37:556, 1971.
- 19.—ROSSE, W. F.
Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. Chapter 51, 460-474 pp. En: Williams, W. J. et al.: *Hematology*, XXIV + 1480 pp. Mc Graw-Hill Book Co., 1972.
- 20.—ROSSE, W. F.
Variation in the red cells in Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. *Brit. J. Haemat.*, 24:327, 1973.
- 21.—ROSSE, W. F., ADAMS, J. P. & THORPE, A. M.
The population of cells in Paroxysmal Nocturnal Haemoglobinuria of intermediate sensitivity complement lysis: Significance and mechanism of increased immune. *Brit. J. Haemat.*, 28:181, 1974.
- 22.—SIRCHIA, G. & FERRONE, S.
Normal human erythrocytes treated in vitro with sulphhydryl compound AET: Relationship to the erythrocytes of Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria. *Blood*, 37:563, 1971.
- 23.—SIRCHIA, G.
Study of two in vitro diagnostic test for Paroxysmal Nocturnal Haemoglobinuria. *Brit. J. Haemat.*, 24:751, 1973.
- 24.—WINTROBE, M. M.
Hematología Clínica (2º Tomo). IV Ed., XX + 1176 pp. Inter-Médica, 1961.