

PEARLS OF LABORATORY MEDICINE

www.traineecouncil.org

TÍTULO: Pruebas de hemorragia feto-materna

PRESENTADOR: Eapen K. Jacob, M.D.

Diapositiva 1:

Hola. Soy Eapen Jacob, Profesor Asistente de Medicina de Laboratorio en la Clínica Mayo de Rochester, Minnesota. Bienvenidos a esta Cápsula de Medicina de Laboratorio, sobre “**Las pruebas de hemorragia feto-materna**”.

Diapositiva 2:

La enfermedad hemolítica feto-neonatal, o EHFN, es un trastorno clínicamente significativo que históricamente ha representado una de las primeras causas de muerte en fetos y neonatos. En ella, los glóbulos rojos fetales son destruidos por anticuerpos maternos que atacan antígenos paternos expresados en las células fetales. Para mí se trata de una de las mayores historias de éxito de la medicina moderna pues entre la teoría original acerca de su causa (desarrollada en gran parte por una patóloga de Chicago, la Dra. Ruth Darrow en la década de los 1940) y el tratamiento y prevención exitosos, transcurrieron apenas unos 30 años.

Diapositiva 3:

Por lo general, se cree que el principal evento inmunizador ocurre durante el parto cuando las células fetales entran en el torrente sanguíneo materno. A diferencia de con la trombocitopenia aloinmune neonatal, la inmunización se da durante un primer embarazo y la destrucción de células (en este caso eritrocitos) se da típicamente en un embarazo posterior. Otros eventos como trauma, intervenciones, y abortos espontáneos/inducidos también pueden ocasionar la inmunización más pronto en el embarazo, aunque en la mayoría de los casos ocurre durante el parto. En la figura a mano derecha, los eritrocitos en la circulación fetal están separados de la circulación

materna, aunque el oxígeno y otras sustancias pueden traspasar. Una de estas sustancias es la IgG usando el receptor Fc- γ -neonatal. Después de que esto ocurre, dicha sustancia puede unirse a eritrocitos fetales (si está presente un antígeno cognado) dando por resultado su destrucción. Históricamente el principal antígeno en cuestión era el D (antígeno Rh).

La destrucción de los eritrocitos conlleva múltiples consecuencias. El feto se vuelve anémico. Mecanismos compensatorios provocan un aumento del gasto cardíaco, lo que podría desencadenar una insuficiencia, así como la hematopoyesis extramedular y, a la larga, la hidropesía. Un detalle interesante es que durante la enfermedad hemolítica del feto en el útero los productos de degradación se metabolizan en el hígado de la madre. Tras la expulsión del bebé, sin embargo, su hígado no es capaz de convertir totalmente la bilirrubina, ocasionando ictericia y kernícterus (complicaciones neurológicas).

Diapositiva 4:

Gracias a tratamientos desarrollados en los últimos 50 años, la mortalidad infantil ha disminuido de forma dramática. Estos incluyen las bililuces, que ayudan a descomponer la bilirrubina no conjugada insoluble en una forma más soluble que luego puede excretarse. Existen también métodos más invasivos como las transfusiones de intercambio, incluso en el útero. Estos, junto con otros esfuerzos, han bajado significativamente la morbilidad y mortalidad, si bien no las han eliminado por completo.

En la década de los 1960, varios grupos en América del Norte y Europa pensaron que la formación de anti-D podría quizás prevenirse mediante la infusión de un anticuerpo anti-D, y se sorprendieron al constatar que funcionó bastante bien. La clave de su uso está en reconocer los eventos inmunizadores potenciales. En el tratamiento estándar actual se aplica una única dosis de RhIg a las 28 semanas de gestación a madres Rh negativas (para prevenir los eventos inmunizadores durante el embarazo) y luego una segunda dosis tras el parto a madres Rh negativas con bebés Rh positivos. La clave de la segunda dosis es que se administre dentro de tres días del parto y que sea la cantidad suficiente para cubrir la hemorragia feto-materna.

Diapositiva 5:

Un frasco de Rhlg será suficiente para prevenir la inmunización en casos de hemorragias de 30 mL de sangre fetal (15 mL de eritrocitos fetales), según estudios históricos. Afortunadamente menos del 0.5% de partos conllevan dichas hemorragias.

Para determinar cuándo se necesita Rhlg adicional, se utiliza primero una prueba cualitativa. La prueba de rosetas es una prueba serológica diseñada para arrojar un resultado positivo cuando se necesitará más de una dosis de Rhlg. Luego se utiliza una prueba cuantitativa. Históricamente se realiza una prueba Kleihauer-Betke, aprovechando el hecho de que la hemoglobina fetal es más resistente al pH ácido que la hemoglobina adulta. Por lo tanto, las células adultas tienen un aspecto fantasmal en comparación con las células fetales, que se tiñen de color más oscuro. Se trata de una prueba casi artesanal que requiere de conteo manual, y se ha demostrado en investigaciones con pacientes que en algunas ocasiones no se detectan todas las hemorragias.

Las mediciones de citometría de flujo ofrecen varias ventajas, incluyendo un mayor número de células contadas, lo que mejora la exactitud y precisión de la prueba, especialmente en casos de hemorragias de bajo nivel.

Diapositiva 6:

Las pruebas de citometría de flujo se basan en la capacidad de distinguir células fetales adultas utilizando objetivos antigénicos como la hemoglobina fetal. Las células se han permeabilizado, lo que permite que entre a las células el anticuerpo etiquetado que tiene como objetivo la hemoglobina fetal. En este ejemplo, se identifica una población pequeña de células fetales en la tercera década. La mayoría de las células son adultas, con hemoglobina adulta principalmente. Una desventaja de este método es que un adulto típico tiene una pequeña cantidad de células que contienen hemoglobina infantil; aparecen aquí etiquetadas como células adultas F. En nuestras manos éstas

típicamente se tiñen con menos intensidad que las verdaderas células fetales. Hacen falta controles diarios para determinar la colocación correcta de portales. Por ejemplo, con un título bajo de anticuerpos, especialmente en sistemas caseros, resulta difícil distinguir las células fetales de células adultas típicas y células adultas F.

Aunque están diseñados para detectar las células fetales en el torrente sanguíneo materno, y la FDA los ha aprobado para tal fin, estos ensayos en teoría pueden usarse también para medir aumentos en las células que contienen hemoglobina, por ejemplo, en intervenciones terapéuticas para tratar la anemia de células falciformes. Esto puede complicarse, pero sin embargo, dependiendo de la manera en que esté distribuida la hemoglobina fetal en la población de eritrocitos.

Diapositiva 7:

Aunque las hemorragias típicas solo requieren de 1 a 2 frascos de RhIg, a veces se detectan hemorragias grandes, como esta que se ve en la figura superior.

Más problemático es el segundo ejemplo donde está presente una población grande de células que supuestamente son adultas F. Puede aumentarse durante el embarazo el porcentaje de hemoglobina fetal presente en el torrente sanguíneo materno, complicando la enumeración de la hemorragia feto-materna. Resulta esencial aquí una estrategia de portales acertada para poder distinguir las verdaderas células fetales que se tiñen/fluorescen de manera más intensa.

Todavía más problemáticas son las grandes cantidades de dichas células en supuestos casos de persistencia hereditaria de hemoglobina fetal (PHHF). En estos casos, el hombro de células PHHF empieza a invadir el portal de las células fetales verdaderas, imposibilitando una determinación precisa de las células fetales, pues es probable que algunas de las células dentro del portal no sean realmente de origen fetal. Dadas las consecuencias de pasar por alto una hemorragia fetal que pudiera ocasionar un evento inmunizador, es más prudente contar estas células y cubrir con una cantidad adecuada

de Rhlg. Cuando se sabe que la madre tiene PHHF, esto puede dificultar o imposibilitar la determinación precisa de una HFM.

Diapositiva 8:

En estas situaciones pueden resultar útiles las plataformas de anticuerpos duales. Una vez más, se muestra la configuración de un solo anticuerpo con un número moderado de células adultas F y sin hemorragia fetal significativa. En el histograma azul en la parte inferior izquierda, se utiliza anti-fHgb en el eje X y anti-D en el Y. Así, las verdaderas hemorragias fetales relevantes se encontrarían en el cuadrante superior derecho.

De manera similar, en la parte inferior derecha puede utilizarse un segundo anticuerpo, como éste para anhidrasa carbónica, para distinguir las células fetales (que deben ser negativas) de las adultas. Combinado con la hemoglobina fetal, las verdaderas células fetales se encuentran en el cuadrante superior izquierdo. En teoría, las células adultas con una mayor cantidad de hemoglobina fetal luego pueden distinguirse de las verdaderas células fetales.

Diapositiva 9:

Aún pueden presentarse dificultades. Por ejemplo, si la madre del bebé es de fenotipo D parcial, puede resultar problemático distinguir las células con anticuerpo anti-D. Por otro lado, si se le ha administrado a la madre una cantidad significativa de anti-D antes de que se le tome la muestra en el laboratorio, eso puede encubrir el epítotope D ante el anticuerpo diagnosticado. El uso de anticuerpos para distinguir las células fetales de las adultas mediante la maduración del antígeno puede ser un problema si esto no ocurre como se espera en la díada madre/bebé.

Diapositiva 10:

La dosificación de Rhlg se basa en el conocimiento de la cantidad de células fetales en el torrente sanguíneo materno mediante una de las pruebas cuantitativas. Luego, se realiza la conversión a frascos de Rhlg. Se redondea hacia arriba en caso de 0.5 o más, luego se agrega un margen de seguridad de 1 frasco adicional. Por lo tanto, aunque el cálculo de Rhlg indique 0, siempre se administra 1 frasco si la madre es Rh negativo y el bebé Rh positivo.

Diapositiva 11:

El banco de sangre no suele saber el peso de la madre. Si se sabe, se puede sustituir en la ecuación. Si no, el estándar es suponer 70 kg. En este ejemplo de una hemorragia relativamente grande, la circulación materna es de aproximadamente 4,900 mL de sangre entera; un contenido de 1% de células fetales indica una hemorragia de 49 mL. Esto se convierte en 1.6 frascos de Rhlg, que se redondea a 2. Se agrega el margen de seguridad de un frasco adicional para quedar en 3 frascos de Rhlg. Algunos manuales de pruebas sugieren un atajo para estos cálculos; sin embargo, a mí me parece útil conocer el cálculo estándar, pues así puede uno personalizar la dosis si la madre no pesa 70 kg. Cabe mencionar por otro lado que yo utilizo la sangre entera para mis cálculos, lo que da una conversión de 30 mL/frasco. Otros utilizan la conversión 15 mL de eritrocitos fetales/frasco. Lo importante en todo caso es calcular adecuadamente el volumen de la hemorragia fetal.

Diapositiva 12:

Una de las principales causas de inmunización es no reconocer cuándo se debe administrar la Rhlg. ¿Cuál de estos escenarios no requiere Rhlg en una madre Rh negativa?

Lo esencial es reconocer si la madre es Rh negativa. Si el feto es Rh positivo o si no se sabe su Rh, entonces se debe administrar Rhlg.

Cápsulas de Medicina de Laboratorio

Título: Pruebas de hemorragia feto-materna usando citometría de flujo

En el escenario 1, es probable que no se sepa el Rh del feto. Por consiguiente, se requiere Rhlg.

En el escenario 2, tampoco es probable que se sepa el Rh, entonces se recomienda administrar Rhlg. En el tercer trimestre, también debe realizarse una prueba cualitativa o cuantitativa para determinar la cantidad de hemorragia fetal.

En el escenario 3 se sabe que el feto es Rh negativo, por lo que no se requiere Rhlg. Es posible que la hemorragia fetal detectada ocasione un evento inmunizador, pero la Rhlg no lo prevendría porque las células fetales no tienen el antígeno objetivo (las células no tienen D en su superficie).

En el escenario 4, el feto es Rh positivo con una prueba de rosetas negativa en la madre. Eso nos indica que no se requieren dosis adicionales de Rhlg. Sin embargo, de cualquier forma se administraría la dosis de base de 1 frasco porque la prueba está diseñada solo para indicar si hace falta Rhlg adicional.

Finalmente, está el escenario 5. Aun cuando la madre no piensa tener en el futuro niños que pudieran padecer EHFN, es posible que ella vaya a necesitar una transfusión en algún momento de su vida. Con el fin de prevenir la formación potencial de anticuerpos anti-D que le compliquen las transfusiones en el futuro, se justifica la administración de Rhlg en este caso.

Diapositiva 13: Referencias

Diapositiva 14: Declaraciones

Diapositiva 15: Gracias de parte de www.TraineeCouncil.org

Gracias por acompañarme en esta Cápsula de Medicina de Laboratorio sobre las Pruebas de hemorragia feto-materna mediante la citometría de flujo.