

Ruolo del laboratorio nella diagnostica differenziale di un grave caso di anemia

Michela Seghezzi¹, Anna Carobene², Sabrina Buoro³

¹Laboratorio analisi chimico cliniche, ASST Papa Giovanni XXIII, Bergamo

²IRCCS Istituto Scientifico Ospedale San Raffaele, Milano

³Centro di Riferimento Regionale per la Qualità dei Servizi di Medicina di Laboratorio, ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano

ABSTRACT

The role of the clinical laboratory in the differential diagnosis in a patient with severe anemia.

A male, 54 years old, presented to the emergency department of Bergamo Papa Giovanni XXIII hospital, with confusion and neurological symptoms.

The peripheral blood cells count, performed on the Sysmex XN-20, showed a severe macrocytic anemia: hemoglobin 42 g/L, mean corpuscular volume 107 fL, accompanied by the morphology flag "fragments". The morphological evaluation on the blood smear, strongly recommended with a blood cell count showing such values, confirmed the presence of erythroblasts, and revealed several morphological alterations (remarkable anisopoikilocytosis, basophilic stippling, hypersegmented neutrophils). The patient was admitted to the hospital and transfused. Further investigations showed a severe deficiency of vitamin B12, an abnormal lactate dehydrogenase activity, and an undetectable haptoglobin concentration. After the transfusions, the patient recovered quickly, and was able to report about a previous gastric resection; the information was missed at admission because of the patients confusional state. The possibility of metal poisoning or copper deficiency were not investigated.

Parole chiave: anemia, vitamina B12, morfologia eritrocitaria

CASO CLINICO

Il paziente è un maschio di 54 anni, giunto al Pronto Soccorso (PS) dell'ASST Papa Giovanni XXIII di Bergamo in stato confusionale e con importanti segni neurologici quali intorpidimento e formicolio alle estremità, cefalea e tremori. L'esame emocromocitometrico e la conta dei reticolociti, effettuati con lo strumento Sysmex XN-20 (Sysmex, Kobe, Japan), evidenziano un quadro di grave anemia macrocitica: emoglobina 42 g/L (i.r. 140-170) e volume corpuscolare medio 107 fL; (i.r. 81,8-95,3) accompagnato da leucopenia e piastrinopenia (leucociti $3,57 \times 10^9/L$, i.r. 4,20-9,40; piastrine $41 \times 10^9/L$ i.r. 150-400). L'esame emocromocitometrico evidenzia, inoltre, la presenza di eritroblasti, un diminuito conteggio reticolocitario ($21,0 \times 10^9/L$, i.r. 23,0-83,5) e un elevato contenuto di emoglobina reticolocitaria (39,9 pg, i.r. 29,5-35,5). Tutti i valori dell'esame emocromocitometrico sono riportati nella Tabella 1.

In accordo alle regole di blocco e revisione microscopica adottate nel nostro laboratorio (1), e avendo questo campione infranto almeno una delle seguenti regole sugli eritrociti, vale a dire: volume corpuscolare medio delle emazie superiore al limite previsto, valore emoglobina inferiore a 70 g/L al primo accesso, presenza dell'allarme morfologico "Fragments?" che indica la possibile presenza di frammenti eritrocitari, è stato eseguito l'approfondimento del caso in microscopia. La revisione microscopica ha confermato la presenza di eritroblasti e ha evidenziato la presenza di granulociti neutrofili ed eosinofili con ipersegmentazione del nucleo (Figura 1A-D), una spiccata anipoichilocitosi delle emazie con la presenza di dacriociti, macrociti, frammenti eritrocitari (Figura 1E), emazie ed eritroblasti con punteggiatura basofila (Figura 1F e 1G) ed emazie con anelli di Cabot (Figura 1H). Non è stata osservata la presenza di blasti o di anomalie a carico delle altre linee cellulari. Successivamente al ricovero presso l'Unità di

Corrispondenza a: Michela Seghezzi, Laboratorio analisi chimico cliniche, ASST Papa Giovanni XXIII, Bergamo, Piazza OMS 1, 24127 Bergamo, Telefono +39 0352674550, E-mail mseghezzi@asst-pg23.it

Ricevuto: 13.04.2021

Revisionato: 15.05.2021

Accettato: 21.05.2021

Pubblicato on-line: 21.07.2021

DOI: 10.19186/BC_2021.042

Tabella 1

Risultati dell'esame emocromocitometrico e di alcuni parametri di chimica clinica all'accesso in Pronto Soccorso. I valori evidenziati in grigio indicano i valori al di fuori dell'intervallo di riferimento

PARAMETRI (Unità di misura)	VALORE (Intervalli di riferimento)
Eritrociti x10 ¹² /L	1,16 (4,70-5,82)
Emoglobina g/L	42 (140-170)
Ematocrito %	12,5 (43,1-51,5)
MCV fL	107,8 (81,8-95,3)
MCH pg	36,2 (27,3-32,2)
MCHC g/L	336 (310-360)
RDW-CV %	30,0 (11,9-14,4)
NRBC (x10 ⁹ /L)	0,02 (assenti)
Leucociti (x10 ⁹ /L)	3,57 (4,20-9,40)
Neutrofili (x10 ⁹ /L)	1,85 (2,0-6,70)
Linfociti (x10 ⁹ /L)	1,38 (1,13-3,40)
Monociti (x10 ⁹ /L)	0,15 (0,25-0,80)
Eosinofili (x10 ⁹ /L)	0,17 (0,0-0,50)
Basofili (x10 ⁹ /L)	0,01 (0,0-0,10)
Piastrine (x10 ⁹ /L)	41 (150-400)
Reticolociti (x10 ⁹ /L)	21,0 (23,0-83,5)
LFR (%)	78,4 (87,0-97,0)
MFR (%)	15,4 (3,0-11,0)
HFR (%)	6,2 (0,0-2,0)
RET-He (pg)	39,9 (29,5-35,5)
Flag morfologici strumentali	"RBC Abn Distribution"; "Anisocytosis"; "Fragments?"; "PLT Abn Distribution"
Lattico deidrogenasi (U/L)	12954 (230-460)
Ferritina (ng/mL)	124 (20-250)
Folato (ng/mL)	12,3 (2,0-20,0)
Vitamina B12 (pg/mL)	60 (200-1 000)
Aptoglobina (mg/dL)	<0,5 (36-195)

MCV, volume corpuscolare medio; MCH, contenuto emoglobinico corpuscolare medio; MCHC, concentrazione emoglobinica corpuscolare media; RDW-CV, ampiezza della curva di distribuzione del volume eritrocitario; NRBC, eritroblasti; LFR, reticolociti a bassa fluorescenza; MFR, reticolociti a media fluorescenza; HFR, reticolociti ad alta fluorescenza; Ret-He, contenuto emoglobinico reticolocitario.

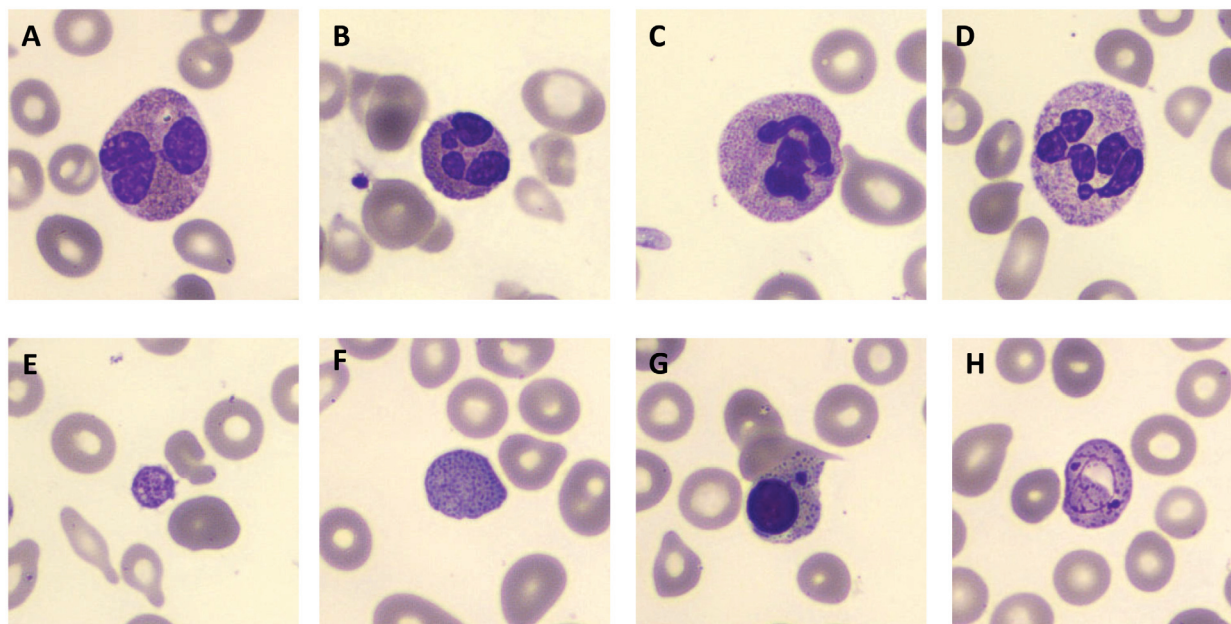


Figura 1

Morfologia di leucociti ed eritrociti osservati durante la revisione microscopica dello striscio di sangue periferico (ingrandimento 100x)

A, B) Eosinofili displastici caratterizzati dalla presenza di un nucleo ipersegmentato

C, D) Neutrofili displastici caratterizzati dalla presenza di un nucleo iperlobato

E) Presenza di dacriociti e anisopoichilocitosi eritrocitaria

F) Emazia con evidente punteggiatura basofila

G) Eritroblasto displastico con punteggiatura basofila

H) Emazia con anelli di Cabot

Degenza Breve del PS sono stati richiesti ulteriori approfondimenti ematochimici. Il valore di vitamina B12 è risultato fortemente diminuito mentre i valori di folati e ferritina sono risultati nella norma. È stato osservato un valore decisamente patologico della lattico deidrogenasi (LDH) (12954 U/L, i.r. 230-460); l'aptoglobina è risultata molto diminuita (<0,5 mg/dL, i.r.36-195) (Tabella 1). Ulteriori indagini hanno escluso altre patologie a carico della linea cellulare eritrocitaria: test di Coombs (negativo), la valutazione delle resistenze osmotiche eritrocitarie (nella norma) e la ricerca delle varianti emoglobiniche tramite elettroforesi (nessuna variante). Il paziente ha mostrato un miglioramento sostanziale dei sintomi dopo due trasfusioni di sangue e supplementazione di vitamina B12.

L'anamnesi approfondita ha rilevato che il paziente aveva subito una resezione gastrica per un pregresso carcinoma gastrico. Tale informazione era stata omessa dal paziente arrivato in PS in stato confusionale.

Dai risultati dell'esame emocromocitometrico e degli esami biochimici, è stata posta la diagnosi di anemia macrocitica da carenza di vitamina B12.

Tuttavia, l'anemia carenziale spiegava solo in parte le inclusioni eritrocitarie associate allo stato psichico alterato. Questo quadro clinico, infatti, suggerisce la necessità di ulteriori analisi di approfondimento come la ricerca di metalli pesanti e in particolare la determinazione del rame. Avendo il paziente, dopo due

solli giorni di ricovero, firmato il modulo per la dimissione volontaria, non è stato possibile eseguire tali approfondimenti.

DISCUSSIONE

La carenza di vitamina B12 e/o folati può portare ad un ampio spettro di disturbi ematologici e neuropsichiatrici (incluso alterazioni della memoria, irritabilità, depressione, demenza e, raramente, psicosi) che possono essere prevenuti da una diagnosi precoce e da un tempestivo trattamento terapeutico (2). La prevalenza della carenza di vitamina B12 nella popolazione generale, basandosi sulle manifestazioni ematologiche e neurologiche, è pressoché sconosciuta (3). Basse concentrazioni di vitamina B12, in assenza di disturbi neurologici e di emocromi fortemente patologici, è invece molto più comune soprattutto in popolazioni con una dieta priva di vitamina B12 (carne, uova e latticini) e alcune evidenze in letteratura indicano che possa aumentare con l'età (3,4).

Oltre alla privazione vitaminica dovuta alla dieta, una carenza di vitamina B12 può essere imputata a malassorbimento della stessa che può essere causato da farmaci, come i betabloccanti o da inibitori delle pompe protoniche (IPP) (5). Per verificare l'associazione degli IPP con la frequenza di anemia, Shijkata, et al., hanno studiato retrospettivamente 278 pazienti

ambulatoriali di cui 88 assumevano IPP (6). Lo studio ha evidenziato una differenza significativa ($p < 0,001$) tra la frequenza di anemia nel gruppo dei pazienti che assumevano IPP (51%) e il gruppo che non la assumeva (19%) (6). Le carenze più gravi di vitamina B12 sono spesso associate all'anemia perniziosa, o alla gastrectomia, condizioni nelle quali la produzione del fattore intrinseco è diminuita e, di conseguenza, è impedito l'assorbimento distale della vitamina B12 (4).

Da un punto di vista ematologico, la carenza di vitamina B12 porta ad anemia megaloblastica, questo perché la carenza di disponibilità di vitamina B12 e/o acido folico provoca uno squilibrio nella crescita cellulare con una continua sintesi proteica nonostante ci sia un rallentamento del processo di replicazione del DNA e della proliferazione cellulare (2-4). Quando la vitamina B12 è carente, le conversioni di omocisteina e metiltetraidrolato in metionina e tetraidrolato sono, infatti, inibite. Il folato, trovandosi quindi "intrappolato" nella sua forma immatura rappresentata dal metiltetraidrolato, non è disponibile come substrato per la sintesi della timidina, che è fondamentale per la sintesi del DNA (4). Il rallentamento del processo di replicazione del DNA colpisce prevalentemente le linee in rapido accrescimento portando così, oltre alla anemia macrocitica, a piastrinopenia e leucopenia, come nel nostro caso, con la caratteristica ipersegmentazione dei neutrofili (2). Per quanto riguarda gli eritrociti, la carenza di vitamina B12 fa sì che molti precursori eritroidi non raggiungano mai uno stato funzionale maturo ma muoiano nel midollo, provocando così una diminuzione del numero di eritrociti totali nel sangue periferico, mentre alcuni precursori danno luogo a eritrociti giganti, frammentati, dismorfici e spesso con residui nucleari (2).

L'interesse di questo caso risiede nella particolarità delle anomalie morfologiche eritrocitarie riscontrate durante l'analisi dello striscio di sangue periferico (Figura 1F e 1H). Infatti, sono state riscontrati globuli rossi con anelli di Cabot (sottili filamenti circolari che si rinvengono nel protoplasma delle emazie giovani nel corso di molte forme di anemia e che rappresentano i residui dei microtubuli del fuso mitotico) (7) particolarmente evidenti e punteggiatura basofila differente da quella normalmente visibile nelle mielodisplasie. Queste peculiari anomalie morfologiche dello striscio di sangue periferico, unitamente alla grave anemia e alla sintomatologia neurologica, possono essere riscontrate anche nelle intossicazioni da metalli pesanti e nella carenza di rame (8,9). L'intossicazione da metalli pesanti causa anche una emolisi intravascolare diffusa, che nel caso clinico qui presentato, giustificherebbe il notevole aumento dell'attività enzimatica della LDH, la diminuzione dell'aptoglobina e la grave anemia osservata (8,9). Considerando che il paziente ha chiesto di essere dimesso, non è stato possibile effettuare gli approfondimenti necessari. Tuttavia, nonostante la causa primaria dello stato anemico fosse imputabile alla carenza di vitamina B12, considerando il quadro particolarmente critico e le alterazioni morfologiche delle emazie, è stato contattato il clinico di riferimento

suggerendo la ricerca di metalli pesanti nel sangue e la misurazione del rame plasmatico.

Il caso clinico qui presentato, di un paziente che non aveva per altro fornito tutte le necessarie informazioni inclusa la precedente gastrectomia, conferma, ancora una volta, l'appropriatezza dell'esame emocromocitometrico e della valutazione in microscopia dello striscio di sangue periferico per rilevare anomalie morfologiche che altrimenti non sarebbero riconoscibili (10). In questo caso, inoltre, la corretta e tempestiva diagnosi ha permesso di intraprendere in modo rapido una terapia di base adeguata alla salvaguardia della vita del paziente (trasfusione), che è risultata fondamentale, considerando per altro lo stato confusionale con cui si era presentato e la sua riluttanza nel farsi curare.

CONFLITTO DI INTERESSI

Nessuno.

BIBLIOGRAFIA

1. Pipitone S, Germagnoli L, Da Rin G, et al. Comparing the performance of three panels rules of blood smear review criteria on an Italian multicenter evaluation. *Int J Lab Hematol* 2017;39:645-52.
2. Tanaka K, Ao M, Kuwabara A. Insufficiency of B vitamins with its possible clinical implications. *J Clin Biochem Nutr* 2020;67:19-25.
3. Green R, Allen LH, Bjørke-Monsen AL, et al. Vitamin B12 deficiency. *Nat Rev Dis Primers* 2017;3:17040.
4. Zik C. Late life vitamin B12 deficiency. *Clin Geriatr Med* 2019;35:319-25.
5. McColl KE. Effect of proton pump inhibitors on vitamins and iron. *Am J Gastroenterol* 2009;104 Suppl 2:S5-9.
6. Shikata T, Sasaki N, Ueda M, et al. Use of proton pump inhibitors is associated with anemia in cardiovascular outpatients. *Circ J* 2015;79:193-200.
7. Ford J. Red blood cell morphology. *Int J Lab Hematol* 2013;35:351-7.
8. Bain BJ. Lead poisoning. *Am J Hematol* 2014;89:1141.
9. Valsami S, Stamoulis K, Lydataki E, et al. Acute copper sulphate poisoning: a forgotten cause of severe intravascular haemolysis. *Br J Haematol* 2012;156:294.
10. Carobene A, Kiarie AG, Tsegaye M, et al. A very uncommon haemoglobin value resulting from a severe acute malnutrition in a 16-month-old child in Ethiopia. *Clin Chem Lab Med* 2020;59:e103-5.