

Citometría de flujo en el diagnóstico y monitorización de pacientes con hemoglobinuria paroxística nocturna

Flow cytometry in the diagnosis and monitoring of patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria

»Jheremy Enrique Reyes Castellanos^{1,2,3}



»Liliana Paola Correa Pérez^{4,5}



»John Fredy Nieto-Ríos⁶



»Mauricio Andrés Alzate Arias⁷



»José Antonio Rojas Suárez^{8,9}



»Mónica Patricia Londoño Barrera¹⁰



»Claudia Patricia Casas¹¹



»Diana Otero de la Hoz¹²



»María Helena Zappa Jaimes¹

»José Luis Timaná Arciniegas¹³

¹ Los Cobos Medical Center, Bogotá, Colombia

² Clínica Los Nogales, Bogotá, Colombia

³ Universidad El Bosque, Bogotá, Colombia

⁴ Clínica Reina Sofía Pediátrica y Mujer Colsanitas, Bogotá, Colombia

⁵ Grupo de investigación Salud de la Mujer, Subred Norte, Hospital de Suba, Bogotá, Colombia

⁶ Departamento de Medicina Interna, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

⁷ Hospital San Vicente Fundación, Medellín, Colombia

⁸ Corporación Universitaria Rafael Núñez, Cartagena, Colombia

⁹ Universidad de Cartagena, Cartagena, Colombia

¹⁰ Laboratorio citometría de flujo

¹¹ Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud, Bogotá, Colombia

¹² Centro Oncológico de Antioquia, Medellín, Colombia

¹³ Fundación Hospital San Pedro, Pasto, Colombia

Recibido el 02 de septiembre de 2024. Aceptado el 08 de julio de 2025

<https://doi.org/10.51643/22562915.721>

Resumen

Introducción: la hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN) es una enfermedad clonal de las células madre hematopoyéticas, caracterizada por hemólisis intravascular, episodios trombóticos, riesgo de falla medular y daño a órganos como riñón y pulmón. Las mutaciones en el gen PIGA causan deficiencia de proteínas ancladas a glicosidil fosfatidilinositol (GPI) aumentando la susceptibilidad celular a la lisis mediada por complemento. Dada su presentación clínica variable, el diagnóstico temprano y la monitorización continua con citometría de flujo (CF), son cruciales para un manejo eficaz. **Objetivo:** describir la aplicación de la CF en el diagnóstico y seguimiento de pacientes con HPN, destacando su utilidad, beneficios y limitaciones. **Métodos:** se realizó una revisión de la literatura en bases de datos como PubMed, Embase, Scopus, Web of Science y Google Scholar de estudios publicados entre enero de 2000 y julio de 2024. Se incluyeron estudios en humanos que describieran el uso de la CF en el diagnóstico y monitoreo de HPN. **Resultados:** se eligieron 40 estudios. La

* **Autor para correspondencia:** Jheremy Enrique Reyes MD, MsC. Los Cobos Medical Center. Clínica Los Nogales. Universidad El Bosque, Bogotá, Colombia.

Correo electrónico: jheremyreyesmd@gmail.com

Doi: <https://doi.org/10.51643/22562915.721>

Asociación Colombiana de Hematología y Oncología. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

CF tiene alta sensibilidad y especificidad (>95 %) para detectar células deficientes en GPI, utilizando marcadores como CD55 y CD59. La CF fue efectiva para cuantificar la carga clonal, monitorizar la respuesta al tratamiento con anti-C5 y detectar complicaciones como trombosis y síndromes mielodisplásicos. Técnicas avanzadas de CF permitieron identificar clones en niveles bajos (<0.1 %), facilitando intervenciones clínicas oportunas. **Conclusiones:** la citometría de flujo apoya el diagnóstico y seguimiento de la HPN, mejorando la gestión de la enfermedad y optimizando el tratamiento.

Palabras Clave: hemoglobinuria paroxística; trombofilia; citometría de flujo; servicios de diagnóstico; anemia hemolítica.

Abstract

Introduction: HPN is a clonal disease of hematopoietic stem cells, characterized by intravascular hemolysis, thrombotic episodes, risk of bone marrow failure, and damage to organs such as the kidney and lung. Mutations in the PIGA gene cause a deficiency of glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchored proteins, increasing cellular susceptibility to complement-mediated lysis. Given its variable clinical presentation, early diagnosis and continuous monitoring with flow cytometry (CF) are crucial for effective management. **Objective:** To describe the application of CF in the diagnosis and follow-up of patients with HPN, highlighting its usefulness, benefits, and limitations. **Methods:** A literature review was conducted in databases such as PubMed, Embase, Scopus, Web of Science, and Google Scholar of studies published between January 2000 and July 2024. Studies in humans that describe the use of CF in the diagnosis and monitoring of HPN were included. **Results:** 40 studies were selected. CF has high sensitivity and specificity (>95%) for detecting GPI-deficient cells using markers such as CD55 and CD59. CF was effective for quantifying clonal burden, monitoring response to anti-C5 treatment, and detecting complications such as thrombosis and myelodysplastic syndromes. Advanced CF techniques allowed for the identification of clones at low levels (<0.1%), facilitating timely clinical interventions. **Conclusions:** Flow cytometry supports the diagnosis and monitoring of HPN, improving disease management and optimizing treatment.

Keywords: paroxysmal hemoglobinuria; thrombophilia; flow cytometry; diagnostic services; hemolytic anemia.

Introducción

La hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN) es una enfermedad clonal de las células madre hematopoyéticas caracterizada por la destrucción intravascular de los glóbulos rojos, episodios de trombosis, riesgo elevado de evolución a falla medular y daño en órganos blanco como riñón, pulmón, tracto gastrointestinal, entre otros.¹⁻⁵ La HPN se origina de muta-

ciones en el gen PIGA (*Phosphatidylinositol Glycan Anchor Biosynthesis Class A*), lo que conduce a la deficiencia de proteínas ancladas a glicosidilfosfatidilinositol (GPI) en la superficie celular, haciéndolas susceptibles a la destrucción mediada por complemento.¹ Debido a que su presentación clínica es variable y potencialmente grave, el diagnóstico temprano y la monitorización continua de los pacientes con HPN es fundamental para el manejo eficaz de la

enfermedad.²

La citometría de flujo (CF) es una técnica avanzada que permite el análisis detallado de las propiedades físicas y químicas de las células en una muestra.¹ En el contexto de HPN, esta técnica es particularmente útil para identificar y cuantificar los clones celulares deficientes de GPI, proporcionando una herramienta para el diagnóstico inicial y para la monitorización de la enfermedad.^{2,3} La capacidad de la CF para analizar grandes cantidades de células en un tiempo relativamente corto, junto con su alta sensibilidad y especificidad, la convierte el método de elección para evaluar la carga clonal y la respuesta al tratamiento en pacientes con HPN.³

La introducción del tratamiento con inhibidores del complemento terminal C5 (anti C5) han revolucionado el manejo de la HPN, mejorando significativamente la supervivencia y la calidad de vida de los pacientes.^{2,4} No obstante, la monitorización regular mediante CF sigue siendo fundamental para evaluar la eficacia del tratamiento, detectar recaídas tempranas y ajustar las estrategias terapéuticas según sea necesario. Además, la CF puede ayudar a identificar complicaciones y comorbilidades asociadas, facilitando un enfoque integral y personalizado en el cuidado de los pacientes.³ La CF ha demostrado utilidad en todo tipo de pacientes: agudos, crónicos e incluso en población pediátrica.⁵

En esta revisión narrativa de la literatura, se sintetiza información sobre la CF en la monitorización de pacientes con HPN, destacando utilidad, beneficios y limitaciones. Se pretende proporcionar información resumida y actualizada sobre la CF como una técnica que puede optimizar el manejo clínico de la HPN, mejorando los resultados a largo plazo para los pacientes. A pesar de amplia evidencia en la

literatura hay pocas publicaciones actualizadas sobre CF en español aptas para público latinoamericano, por lo que ampliar la información sobre uso de CF en diagnóstico, seguimiento y evaluación de la respuesta terapéutica en HPN es una necesidad.

Materiales y métodos

Se realizó una búsqueda de la literatura en las siguientes bases de datos: PubMed, Embase, Scopus, Web of Science y Google Scholar, incluyendo términos como “HPN”, “citometría de flujo”, “monitorización”, “clonalidad”, “eculizumab”, “GPI-deficient cells” y múltiples combinaciones de estos términos. Se incluyeron estudios publicados entre enero de 2000 y julio de 2024, realizados en seres humanos y que describieran el uso de la citometría de flujo en el diagnóstico y monitoreo de los pacientes con HPN. La pregunta de investigación utilizada para la búsqueda de la literatura fue: ¿En pacientes con HPN (P) cuál es el papel de la citometría de flujo (I) en el diagnóstico, seguimiento y respuesta terapéutica (O) evaluando la carga clonal con déficit de GPI?

Se utilizaron operadores booleanos para refinar la búsqueda, excluyendo estudios que no hablaran directamente de diagnóstico y/o monitorización de HPN mediante citometría de flujo; además, se excluyeron resúmenes de conferencias o cartas al editor sin datos completos o que estuvieran duplicados en diferentes bases de datos. Se incluyeron reportes de caso o revisiones de la literatura, dado que la HPN hace parte de las enfermedades raras y de baja prevalencia. Los datos extraídos se organizaron cualitativamente de forma narrativa, agrupándolos en categorías temáticas relevantes para el diagnóstico y monitorización de HPN mediante CF.

Resultados

Se identificaron y analizaron un total de 40 estudios relevantes que cumplieran con los criterios de inclusión. Estos se realizaron en diversas regiones del mundo y abarcan un rango de años de publicación desde 2000 hasta 2024. La mayoría de los estudios fueron retrospectivos, aunque también se incluyeron estudios prospectivos y ensayos clínicos. Los tamaños de muestra variaron significativamente, desde pequeños estudios de casos hasta grandes cohortes multicéntricas.

Citometría de flujo

La CF es una técnica multiparamétrica que trabaja en el principio de la dispersión de la luz y la emisión de fluorescencia por las células sonda con marcación fluorescente específica, mientras pasan a través de un rayo láser. Así mismo, permite el análisis rápido, cuantitativo y multiparamétrico de poblaciones celulares a nivel de una sola célula.^{4,7} Además, permite la clasificación física de las células para separar las subpoblaciones en función de diferentes parámetros. Es una técnica en constante evolución en la que actualmente se están desarrollando nuevas técnicas y tecnologías, como la citometría de flujo por imágenes, citometría de masas y la técnica Raman para abordar las limitaciones de la citometría tradicional.^{6,7}

Desde sus inicios, la CF demostró ser una herramienta altamente efectiva para el diagnóstico inicial de HPN.^{7,8} En los estudios revisados, la CF permitió la identificación precisa de células deficientes en GPI mediante el uso de marcadores específicos como CD55 y CD59. La deficiencia de GPI-AP (proteínas ancladas a GPI) puede explicar la mayor sensibilidad de los eritrocitos a la lisis mediada por el complemento, insuficiencia medular, hemólisis y trombosis (principales hallazgos clínicos de la HPN) y el predominio de

la población de HPN que podrían estar relacionados con la biología y la función de GPI-AP.⁹⁻¹³ La mayoría de los estudios revisados mostraron una alta sensibilidad y especificidad, con una precisión diagnóstica superior al 95 %. Además, la CF fue capaz de detectar clones celulares en una amplia gama de tamaños, desde pequeñas poblaciones hasta clones predominantes, lo cual es una ventaja como prueba diagnóstica.^{14,15}

La capacidad de la CF para cuantificar la carga clonal de células deficientes en GPI fue consistentemente destacada en la literatura revisada. La técnica permite la monitorización continua de los pacientes con HPN, permitiendo así la detección temprana de cambios en la carga clonal que podrían indicar una recaída o progresión de la enfermedad. En estudios longitudinales, se observó que los pacientes con una carga clonal elevada presentaban un mayor riesgo de complicaciones, como trombosis y evolución a insuficiencia medular.¹⁶⁻²⁰

La CF tiene utilidad en el diagnóstico, tanto en pacientes con sintomatología crónica como en pacientes agudos o críticos y se ha utilizado ampliamente para evaluar la eficacia del tratamiento con antiC5 (eculizumab o ravulizumab) en pacientes con HPN.^{9,17,20}

Varios estudios con citometría de flujo multicolor estandarizados y robustos para revelar clones de HPN (eritrocitos, neutrófilos y monocitos) demostraron un alto nivel de sensibilidad y precisión.^{9,21,22} Se han establecido procedimientos de alta resolución para detectar pequeños clones de HPN a un nivel de sensibilidad de alrededor del 0.01 % en eritrocitos y neutrófilos. El tipo y el tamaño del clon celular se han correlacionado con las presentaciones clínicas y se han establecido recomendaciones para el seguimiento clínico. El anticuerpo monoclonal terapéutico eculizumab ha mejorado drásticamente tanto la calidad de vida como la esperanza de vida de los pacientes afectados,

aumentando aún más la importancia de una detección precisa de la citometría de flujo y el seguimiento de los clones.¹⁹

Como estrategia de seguimiento terapéutico, la mayoría de los pacientes tratados con eculizumab experimentaron una reducción significativa en la hemólisis intravascular y una mejora en la calidad de vida. Así mismo, la CF permitió medir de manera precisa la disminución de la carga clonal de células deficientes en GPI, lo que se correlacionó con una mejoría clínica significativa.²³⁻²⁶ En estudios comparativos, algunos pacientes que recibieron terapia anticomplemento mostraron una reducción sostenida de los clones celulares deficientes en GPI, en comparación con aquellos que no recibieron el tratamiento.²⁷⁻³⁰ La precisión mejorada de las pruebas de CF actuales permite una detección de clones más pequeños; dichas técnicas de citometría de alta sensibilidad permitieron detectar clones de HPN tan pequeños como <1 % de la hematopoyesis de un paciente, por lo que se requiere una apropiada interpretación de los datos de acuerdo con el escenario clínico.¹⁰

La CF también ha sido efectiva en la detección de complicaciones asociadas con HPN, como la trombosis y la evolución a síndromes mielodisplásicos.¹¹ La monitorización regular mediante CF permitió la identificación temprana de estas complicaciones, facilitando intervenciones clínicas oportunas. Además, la técnica permitió evaluar la aparición de nuevas clonas o mutaciones que podrían afectar el curso de la enfermedad y el efecto de la terapia.^{11,12}

Hemoglobinuria paroxística nocturna y citometría de flujo

Se consideran tres tipos de presentación clínica de HPN: clásica, asociada a hemólisis y clones celulares de HPN grandes, asociada a falla medular con hemólisis (generalmente con

clones pequeños) y la subclínica (hemólisis nula o mínima y signos variables de HPN). Las estrategias de detección de HPN pueden utilizarse para enmarcar a los pacientes en alguna de estas categorías, como ha sido propuesto por algunos autores.^{13,25,31-33} El monitoreo clínico y hematológico es importante; debe incluir vigilancia de la hemólisis, complicaciones en múltiples órganos y las clonas celulares evaluadas por citometría de flujo.¹⁴⁻¹⁶

A pesar de sus numerosas ventajas, los estudios también señalan algunas limitaciones en el uso de la citometría de flujo, las cuales incluyen la necesidad de equipos especializados y personal capacitado, lo que puede ser un reto en escenarios de recursos limitados, así como el costo asociado con la técnica.¹⁶ Algunos estudios mencionan la variabilidad en los resultados debido a diferencias en los protocolos de laboratorio y la interpretación de los datos. Sin embargo, se destacó que la estandarización de los procedimientos y la capacitación adecuada del personal pueden mitigar estas limitaciones.^{25,31}

Citometría de flujo en HPN

La detección por citometría de flujo de células que carecen de expresión de moléculas de superficie ancladas al glicosilfosfatidilinositol (GPI), se ha establecido como el método de elección para diagnosticar y monitorear la HPN.⁵⁻⁸ La detección y cuantificación de poblaciones clonales y los tipos de células involucradas pueden permitir al médico clasificar la enfermedad de manera adecuada, evaluar el riesgo de progresión de la enfermedad y hacer monitoreo de la respuesta al tratamiento.^{9,10,15}

Por citometría de flujo es posible identificar la presencia de fenotipos de HPN y cuantificar el tamaño del clon en glóbulos rojos y en glóbulos blancos (neutrófilos y monocitos) (Figura

1 y 2).^{27,28,30} Para el análisis de glóbulos rojos se recomienda el uso de CD59 con el fin de detectar células deficientes en GPI.³²⁻³⁷

Se pueden identificar diferentes tipos de clones dependiendo de la expresión de CD59 (Figuras 1 y 2):

Los glóbulos rojos de tipo I son glóbulos rojos normales con expresión brillante de CD59 y una vida útil de aproximadamente 120 días.

Los glóbulos rojos de tipo III con HPN tienen deficiencia completa de CD59, lo que da como resultado la falta de protección contra la lisis mediada por el complemento y una vida útil más corta de 10 a 15 días.

Los glóbulos rojos de tipo II con HPN tienen deficiencia parcial de CD59, lo que da como resultado una protección parcial contra la lisis mediada por el complemento.

Figura 1.

Estudios de citometría de flujo para la identificación y cuantificación de células dependientes de GPI en las poblaciones de glóbulos rojos, monocitos y granulocitos. a) sin deficiencia, b) <0.1 % de células deficientes, c) 0.1 % -1.0 % células deficientes. Fuente: Centro diagnóstico especializado por citometría de flujo.

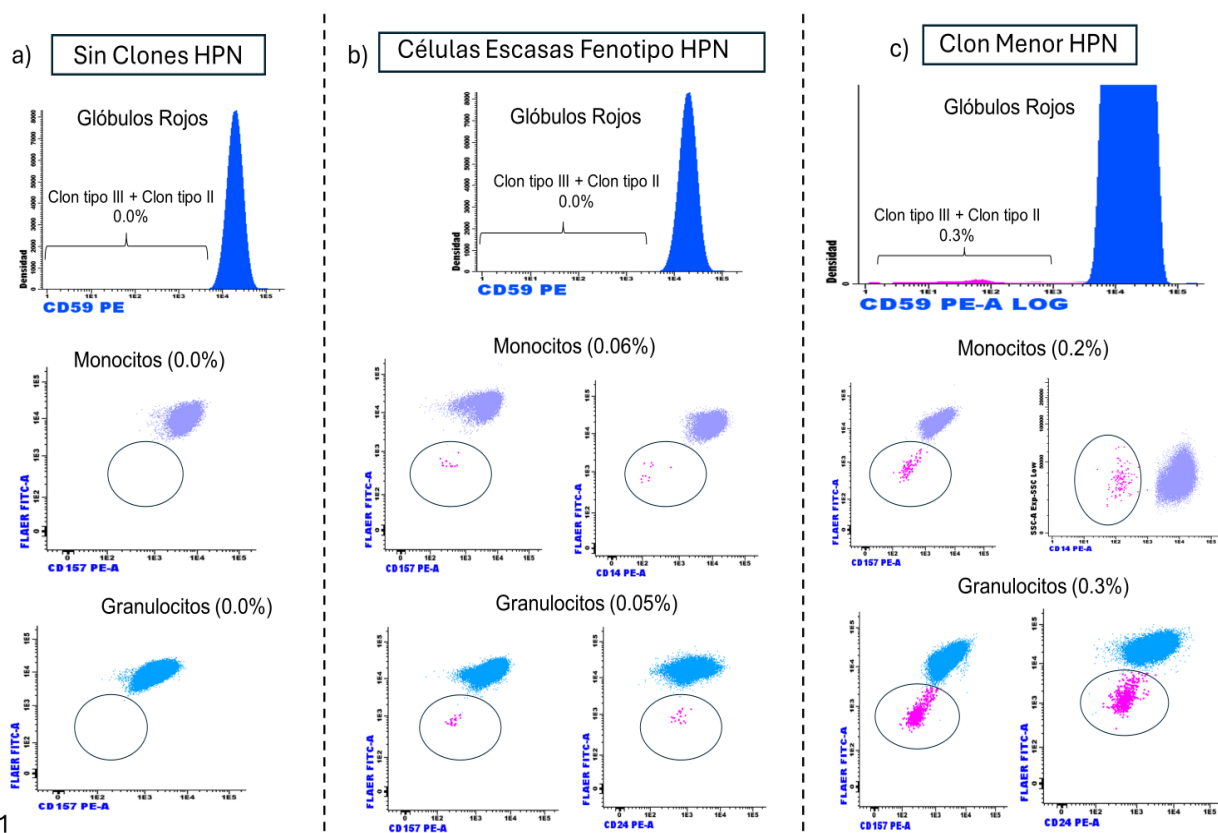


Figura 1

Figura 2.

Estudios de citometría de flujo para la identificación y cuantificación de células dependientes de GPI en las poblaciones de glóbulos rojos, monocitos y neutrófilos. Fuente: Centro diagnóstico especializado por citometría de flujo.

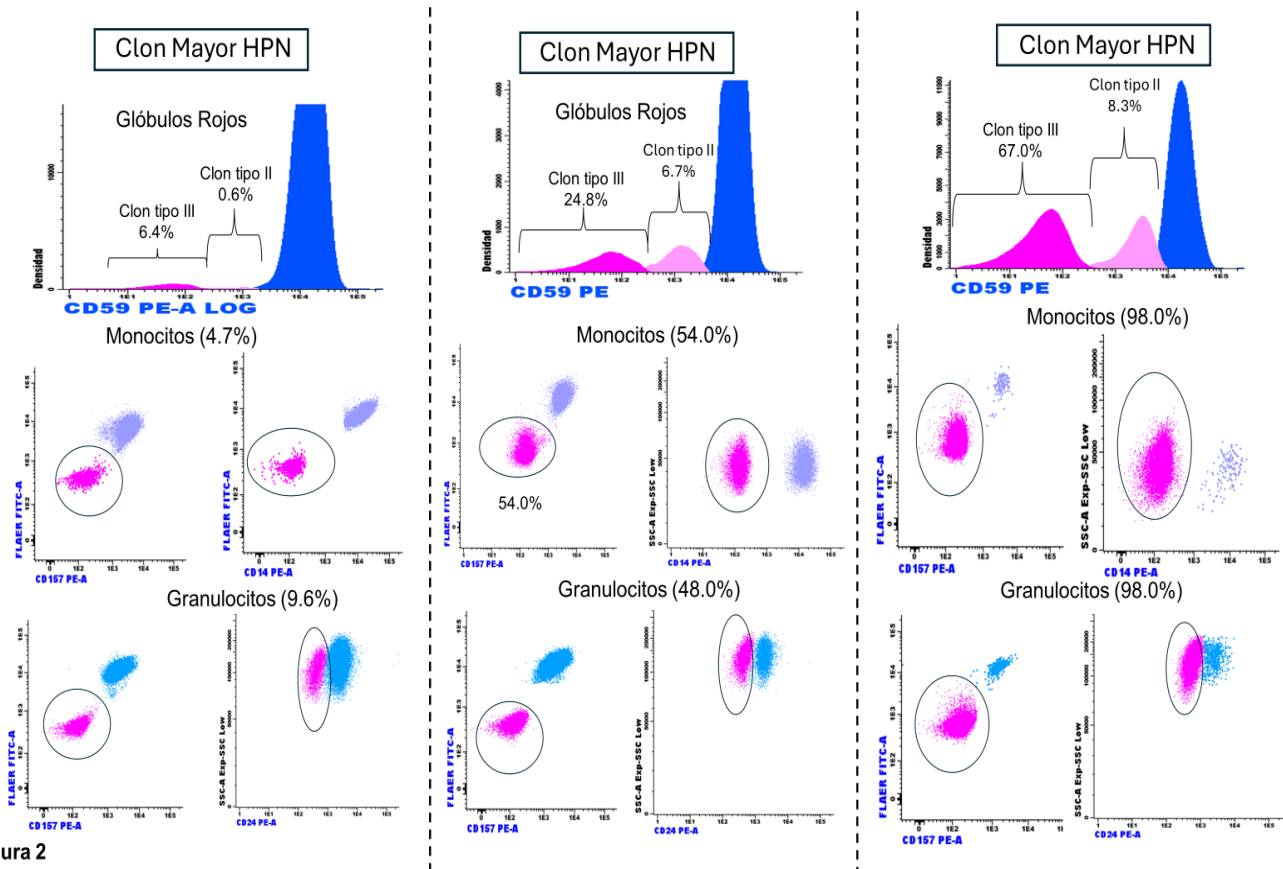


Figura 2

El tamaño del clon de HPN en los glóbulos rojos es típicamente menor en pacientes con HPN no tratados. La diferencia entre los tamaños de los clones de HPN en los glóbulos blancos y los

glóbulos rojos está usualmente relacionada con el grado de hemólisis, ya que los glóbulos rojos deficientes en GPI son destruidos por la lisis mediada por el complemento (Tabla 1).^{32,33,36,38-40}

Tabla 1.

Clasificación de los clones de HPN de acuerdo a su tamaño

Tipo de clon	Población
Clon HPN	Deficiente >1 %
Clon menor de HPN	Deficiente de 0.1 % a 1.0 %
Células raras con fenotipo HPN	Deficiente <0.1 %

Para el análisis de fenotipos de HPN en neutrófilos y monocitos se recomienda el uso de anticuerpos como FLAER, CD24, CD14, CD157 y CD14. Es necesario el uso de anticuerpos y estrategias de análisis que permitan hacer la adecuada identificación del linaje y estadio de maduración de cada una de las líneas celulares a evaluar. Los neutrófilos y monocitos también pueden mostrar la presencia de poblaciones de tipo II, pero no es clara aún la importancia clínica y biológica de estas poblaciones.^{5,10,15,36,38}

Discusión

La CF se ha establecido como una herramienta esencial en el diagnóstico y la monitorización de pacientes con HPN, proporcionando una evaluación precisa y cuantitativa de los clones celulares deficientes en GPI. Este análisis ha permitido avances significativos en la comprensión y manejo de HPN, destacando su importancia en la práctica clínica. Los estudios revisados confirman que esta técnica no solo es crucial para el diagnóstico inicial, sino también para el seguimiento (Figura 3) de la enfermedad y la evaluación de la respuesta al tratamiento con los anticuerpos monoclonales anti C5: eculizumab o ravulizumab.^{14,29,40}

Figura 3.

Estudios de citometría de flujo en el seguimiento de clones de HPN a través del tiempo. a) Aumento del clon en 26 meses, b) Clon estable en 22 meses, c) Disminución del clon en 62 meses.

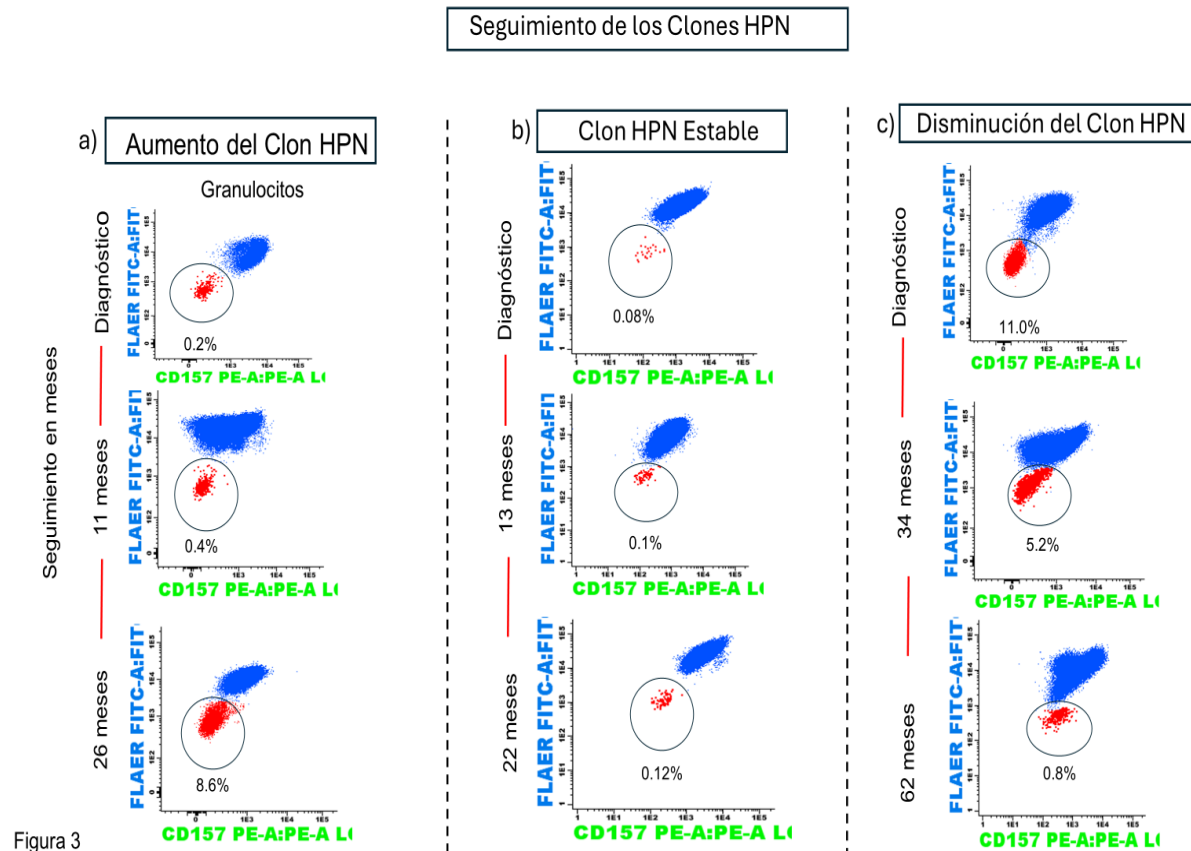


Figura 3

La capacidad de la CF para identificar clones celulares en niveles bajos es especialmente relevante en pacientes con carga clonal mínima, quienes podrían no mostrar síntomas clínicos evidentes, pero aún están en riesgo de complicaciones.^{17,18}

Entre las ventajas de la citometría de flujo se incluyen su alta sensibilidad y especificidad, la capacidad de analizar grandes volúmenes de células en un tiempo relativamente corto y la posibilidad de realizar múltiples análisis simultáneamente. Estas características la convierten en una herramienta ideal para la monitorización regular de pacientes con HPN. Además, la citometría de flujo permite la detección temprana de recaídas y la evaluación precisa de la eficacia del tratamiento, facilitando ajustes terapéuticos oportunos.^{22,23,36,40}

En cuanto a las limitaciones, la CF requiere equipos especializados y personal capacitado, lo que puede limitar su disponibilidad en ciertos entornos clínicos.^{37,38,39,40} Además, los costos asociados con la adquisición y mantenimiento del equipo, así como los reactivos necesarios, pueden ser elevados. Estas barreras pueden restringir su uso rutinario en algunos hospitales y clínicas, especialmente en regiones con recursos limitados.^{32,36,39}

La implementación de la citometría de flujo en la práctica clínica ha mejorado significativamente la gestión diagnóstica y monitoreo de HPN. La detección temprana de clones celulares permite intervenciones más oportunas, mejorando los resultados a largo plazo para los pacientes.¹⁵ La capacidad de evaluar la respuesta al tratamiento con eculizumab de manera precisa, ha permitido optimizar las dosis y minimizar efectos adversos, mejorando así la calidad de vida de los pacientes. Como barrera está la disponibilidad de la prueba, que suele estar centralizada y en laboratorios de referencia, y la variabilidad en la práctica clínica para solicitar la prueba, que hace parte de los retos para su

uso.^{17,18}

Además, la monitorización continúa mediante CF facilita la identificación de complicaciones asociadas, como la evolución a insuficiencia medular; esto es particularmente importante dado el riesgo elevado de estas complicaciones en pacientes con HPN. La capacidad de detectar cambios en la carga clonal también puede proporcionar información valiosa sobre la progresión de la enfermedad y la necesidad de intervenciones adicionales.³⁰⁻³⁶

Comparada con otras técnicas de monitorización, como la citogenética y la PCR (reacción en cadena de la polimerasa), la CF ofrece varias ventajas en términos de rapidez, precisión y capacidad de análisis cuantitativo. Mientras que la citogenética es útil para detectar aberraciones cromosómicas, no proporciona información detallada sobre la clonalidad de las células deficientes en GPI.^{15,36,40} La PCR, aunque es altamente sensible, no permite el análisis simultáneo de múltiples parámetros celulares como lo hace la citometría de flujo. Por lo tanto, la citometría de flujo se posiciona como la técnica preferida para la monitorización integral de HPN.^{36,40}

Una de las limitaciones más importantes de la CF es su uso y disponibilidad en escenarios con dificultad para el acceso a los servicios de patología con capacidad de realizar CF en entornos con recursos limitados, en otros escenarios como las neoplasias hematológicas. Se ha propuesto realizar consensos estratificados por recursos que definan paneles CF para mejorar el acceso de los pacientes a estas pruebas.⁴¹

En 2025 se socializa el Consenso Andino sobre Hemoglobinuria Paroxística Nocturna en el cual se recomienda, frente a la citometría de flujo, realizar tamizaje sistemático para HPN independiente de la presencia o no de síntomas de esta enfermedad en pacientes con anemia aplásica y SMD mediante citometría de flujo en sangre periférica, para ajustar oportunamente

el diagnóstico y las estrategias de manejo. Lo socializan como una recomendación fuerte a favor y calidad de la evidencia alta. También proponen la presencia de hemoglobinuria, especialmente la de predominio nocturno, aunada a la fatiga, disnea y antecedentes de trombosis, lo que eleva la sospecha de HPN, haciendo mandatorio el estudio confirmatorio mediante citometría de flujo. Reconocen que una barrera para la prueba nace de la baja sospecha de la enfermedad en los diferentes contextos clínicos en los que se puede presentar y la baja sensibilización del personal de salud frente a la HPN. Como técnica específica recomiendan la citometría de flujo utilizando FLAER (*Fluorescein-labeled proaerolysin*), derivado fluorescente de la toxina bacteriana aerolisina y que se une directamente al GPI, considerada como el estándar de oro para el diagnóstico y seguimiento de HPN debido a su alta sensibilidad y especificidad.⁴²

En la Tabla 2 se sintetizan recomendaciones adecuadas por la literatura para uso de la citometría de flujo dentro del marco de la HP.

Tabla 2.

Recomendaciones adecuadas por la literatura para uso de la citometría de flujo dentro del marco de la HPN

Recomendaciones
Diagnóstico inicial
Seguimiento de la clona
Determinar beneficios de la terapia
Diagnóstico diferencial
Seguimiento ante el ajuste farmacológico

Conclusión

La CF es una herramienta esencial para el diagnóstico y seguimiento de pacientes con HPN, ofreciendo ventajas significativas en términos

de sensibilidad, especificidad y capacidad de análisis. Al establecer el tamaño de los clones presentes al momento del diagnóstico se puede realizar el seguimiento de la enfermedad. Su aumento en los glóbulos rojos indica respuesta a las terapias de bloqueo del complemento, y en glóbulos blancos permite evaluar variables como el riesgo trombótico a medida que aumenta su tamaño. La implementación de la CF en la práctica clínica unida al establecimiento de algoritmos diagnósticos más eficientes, ha mejorado significativamente la gestión de la enfermedad, permitiendo diagnósticos precisos, evaluaciones detalladas de la respuesta al tratamiento y detección temprana de complicaciones. La optimización de esta técnica y su acceso en diferentes entornos clínicos pueden contribuir a mejorar aún más los resultados en pacientes con HPN.

Abreviaturas

- HPN Hemoglobinuria paroxística nocturna
- PIGA *Phosphatidylinositol Glycan Anchor Biosynthesis Class A*
- CF Citometría de flujo
- GPI Glicosilfosfatidilinositol
- PCR Reacción en cadena de la polimerasa

Fuentes de Financiamiento

Este estudio no fue apoyado por ningún patrocinador o financiador.

Declaración de Conflicto de Intereses

Los autores declaran no tener relaciones comerciales o personales que influyan en la investigación.

Colaboraciones

Los colaboradores desempeñaron un papel sustancial en la concepción, diseño, adquisición, análisis, interpretación, redacción y revisión crítica del manuscrito. Todos los autores aprobaron el contenido final y aceptan la responsabilidad por su precisión e integridad.

Biografía de autores

Jheremy Enrique Reyes. MD, MSc. Médico Cirujano, Universidad Nacional de Colombia. Especialista en Medicina Interna, Pontificia Universidad Javeriana. Especialista en Hematología, Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud. Especialista en Docencia Universitaria, Universidad El Bosque. Máster en Oncología Molecular, Universidad Rey Juan Carlos (España). Docente Universidad El Bosque.

Liliana Paola Correa. MD, MSc, PhD. Médica, Intensivista, Magíster en Salud Pública, Doctora en Bioética.

John Fredy Nieto-Ríos. MD, Esp, MSc. Médico Universidad de Caldas. Internista Nefrólogo, Universidad de Antioquia. Magíster en Tele-salud, Universidad de Antioquia. Epidemiólogo Clínico, Universidad Autónoma de Bucaramanga. Máster en Ecografía Clínica, Universidad Tecnológica Tech de España. Fellow de la Sociedad Americana de Nefrología (ASN). FSLANH. Investigador Senior Minciencias.

Mauricio Andrés Alzate. Médico Internista Hematólogo.

José Antonio Rojas. Magíster en Epidemiología Clínica.

Mónica Patricia Londoño. MSc. Bacterióloga, Citometría de Flujo.

Claudia Patricia Casas. Médica, Especialista en Medicina Interna y Hematología.

Diana Otero de la Hoz. Médica, Especialista en Medicina Interna y Hematología

María Helena Zappa. Médica, Especialista en Epidemiología.

José Luis Timaná. Hematólogo.

Referencias

1. Brodsky RA. How I treat paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Blood [Internet]. 2021;137(10):1304–9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1182/blood.2019003812>
2. Lima M. Laboratory studies for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, with emphasis on flow cytometry. Pract Lab Med [Internet]. 2020;20(e00158):e00158. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.plabm.2020.e00158>
3. Hill A, Richards SJ, Hillmen P. Recent developments in the understanding and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. British Journal of Haematology. [Internet]. 2007;137(3):181–92. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2007.06554.x>
4. Parker C. Diagnosis and management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. Blood [Internet]. 2005;106(12):3699–709. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2005-04-1717>
5. Donohue RE, Marcogliese AN, Sasa GS, Elghetany MT, Redkar AA, Bertuch AA, et al. Standardized high-sensitivity flow cytom-

- etry testing for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in children with acquired bone marrow failure disorders: A single center US study. *Cytometry B Clin Cytom* [Internet]. 2018;94(4):699–704. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1002/cyto.b.21536>
6. Manohar SM, Shah P, Nair A. Flow cytometry: principles, applications and recent advances. *Bioanalysis* [Internet]. 2021;13(3):181–98. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4155/bio-2020-0267>
 7. Jayasinghe SN. Reimagining flow cytometric cell sorting. *Adv Biosyst* [Internet]. 2020;4(8):e2000019. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1002/adbi.202000019>
 8. Babushok DV. When does a PNH clone have clinical significance? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* [Internet]. 2021;2021(1):143–52. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1182/hematology.2021000245>
 9. Brando B, Gatti A, Preijers F. Flow Cytometric diagnosis of paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria: Pearls and pitfalls - A critical review article. *EJIFCC*. [Internet]. 2019;30(4):355–70. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31814811/>
 10. Fattizzo B, Serpenti F, Giannotta JA, Barcellini W. Difficult cases of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: Diagnosis and therapeutic novelties. *J Clin Med* [Internet]. [Internet]. 2021;10(5):948. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/jcm10050948>
 11. Cançado RD, Araújo A da S, Sandes AF, Arrais C, Lobo CL de C, Figueiredo MS, et al. Consensus statement for diagnosis and treatment of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Hematol Transfus Cell Ther* [Internet]. 2021 ;43(3):341–8. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.htct.2020.06.006>
 12. de Latour RP, Mary JY, Salanoubat C, Terriou L, Etienne G, Mohty M, et al. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: natural history of disease subcategories. *Blood* [Internet]. 2008;112(8):3099–106. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2008-01-133918>
 13. Fishman J, Kuranz S, Yeh MM, Brzozowski K, Chen H. Changes in hematologic lab measures observed in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria treated with C5 inhibitors, ravulizumab and eculizumab: Real-world evidence from a US based EMR network. *Hematol Rep* [Internet]. 2023;15(2):266–82. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/hematolrep15020027>
 14. Schubert J, Hillmen P, Dührsen U, Young NS, Elebute M, et al. Treatment with the Terminal Complement Inhibitor Eculizumab Improves Anemia in Patients with Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria: Phase III Triumph Study Results. *Blood* [Internet]. 2006; 108(11):124. Disponible en: <https://doi.org/10.1182/blood.V108.11.124.124>
 15. Sutherland DR, Keeney M, Illingworth A. Practical guidelines for the high-sensitivity detection and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clones by flow cytometry. *Cytometry B Clin Cytom* [Internet]. 2012;82(4):195–208. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1002/cyto.b.21023>
 16. Hillmen P, Muus P, Dührsen U, Risitano AM, Schubert J, Young NS, et al. The terminal complement inhibitor eculizumab reduces thrombosis in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* [Internet]. 2006;108(11):123–123. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1182/blood.v108.11.123.123>
 17. Luzzatto L. Recent advances in the pathogenesis and treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *F1000Res*

- [Internet]. 2016;5:209. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.12688/f1000research.7288.1>
18. Luzzatto L, Gianfaldoni G, Notaro R. Management of Paroxysmal Nocturnal Haemoglobinuria: a personal view. *Br J Haematol* [Internet]. 2011;153(6):709–20. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2011.08690.x>
 19. Borowitz MJ, Craig FE, Digiuseppe JA, Illingworth AJ, Rosse W, Sutherland DR, et al. Guidelines for the diagnosis and monitoring of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria and related disorders by flow cytometry. *Cytometry B Clin Cytom* [Internet]. 2010;78(4):211–30. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1002/cyto.b.20525>
 20. Kelly R, Arnold LM, Richards SJ. The management of pregnancy in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria on long term eculizumab. *British Journal of Haematology*. [Internet]. 2011;154(3):466–8. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2010.08099.x>
 21. Schubert J, Young MD NS, Luzzatto L, Brodsky RA, Socié G, Rother RP, et al. Lack of correlation of eculizumab therapy in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) patients with myeloproliferative disorders, myelodysplastic syndromes, acute leukemias or aplastic anemia with long-term treatment. *J Clin Oncol* [Internet]. 2008;26(15_suppl):7092–7092. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1200/jco.2008.26.15_suppl.7092
 22. Lee JW, Jang JH, Kim JS. Clinical signs and symptoms of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: experience of a single center in Korea. *International Journal of Hematology*. [Internet]. 2013;97(6):749–55. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s12185-013-1346-4>
 23. Parker CJ. Management of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in the era of complement inhibitory therapy. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* [Internet]. 2011;2011(1):21–9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1182/asheducation-2011.1.21>
 24. Bento LC, Correia RP, Pitangueiras Manguiera CL, De Souza Barroso R, Rocha FA, Bacal NS, et al. The use of flow cytometry in myelodysplastic syndromes: A review. *Front Oncol* [Internet]. 2017;7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3389/fonc.2017.00270>
 25. Risitano AM, Marotta S, Ricci P. Anti-complement treatment for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria using eculizumab: evidence and future development. *Current Opinion in Hematology*. [Internet]. 2011;18(6):436–44. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01157>
 26. Hill A, Rother RP, Wang X, Morris SM Jr, Quinn-Senger K, Kelly R, et al. Effect of eculizumab on haemolysis-associated nitric oxide depletion, dyspnoea, and measures of pulmonary hypertension in patients with paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Br J Haematol* [Internet]. 2010 ;149(3):414–25. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2141.2010.08096.x>
 27. John Richards S, Kelly R, Hill A, Dickinson A, Cullen F, Shingles J, et al. Insights into the natural history of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH): Analysis of the presenting clinical, haematological and flow cytometric features of 705 patients leads to improved classification and prediction of clinical course. *Blood* [Internet]. 2013;122(21):3718–3718. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1182/blood.v122.21.3718.3718>
 28. Sutherland DR, Keeney M, Gratama JW. Enumeration of CD34+ hemato-

- poietic stem and progenitor cells. *Curr Protoc Cytom* [Internet]. 2003;Chapter 6(1):Unit 6.4. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1002/0471142956.cy0604s25>
29. Shimamura A, Alter BP. Pathophysiology and management of inherited bone marrow failure syndromes. *Blood Rev* [Internet]. 2010;24(3):101–22. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.blre.2010.03.002>
 30. DeZern AE, Brodsky RA. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: a complement-mediated hemolytic anemia. *Hematol Oncol Clin North Am* [Internet]. 2015;29(3):479–94. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.hoc.2015.01.005>
 31. Hillmen P, Hall C, Marsh JCW, Elebute M, Bombara MP, Petro BE, et al. Effect of eculizumab on hemolysis and transfusion requirements in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *N Engl J Med* [Internet]. 2004;350(6):552–9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa031688>
 32. Kotru M, Sharma R, Pramanik SK, Purohit A, Singh G, Singh AK, et al. Value of CD16/CD66b/CD45 in comparison to CD55/CD59/CD45 in diagnosis of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: An Indian experience. *Indian J Med Res* [Internet]. 2017;146(3):362–8. Disponible en: https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_195_14
 33. Hall SE, Rosse WF. The use of monoclonal antibodies and flow cytometry in the diagnosis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Blood* [Internet]. 1996;87(12):5332–40. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8652849/>
 34. Piedras J. Flow cytometric analysis of glycosylphosphatidyl-inositol-anchored proteins to assess paroxysmal nocturnal hemoglobinuria clone size. *Cytometry* [Internet]. 2000;42(4):234–8. Disponible en: [https://doi.org/10.1002/1097-0320\(20000815\)42:4%3C234::AID-CYTO3%3E3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/1097-0320(20000815)42:4%3C234::AID-CYTO3%3E3.0.CO;2-6)
 35. Illingworth AJ, Marinov I, Sutherland DR. Sensitive and accurate identification of PNH clones based on ICCS/ESCCA PNH Consensus Guidelines-A summary. *Int J Lab Hematol* [Internet]. 2019;41(S1):73–81. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/ijlh.13011>
 36. Richards SJ, Rawstron AC, Hillmen P. Application of flow cytometry to the diagnosis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Cytometry* [Internet]. 2000;42(4):223–33. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10934341/>
 37. Alfinito F, Del Vecchio L, Rocco S, Boccuni P, Musto P, Rotoli B. Blood cell flow cytometry in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: a tool for measuring the extent of the PNH clone. *Leukemia* [Internet]. 1996;10(8):1326–30. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8709638/>
 38. Richards SJ, Barnett D. The role of flow cytometry in the diagnosis of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria in the clinical laboratory. *Clin Lab Med* [Internet]. 2007;27(3):577–90. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.cl.2007.05.012>
 39. Rotoli B, Bessler M, Alfinito F, del Vecchio L. Membrane proteins in paroxysmal nocturnal haemoglobinuria. *Blood Rev* [Internet]. 1993;7(2):75–86. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/s0268-960x\(05\)80017-7](https://doi.org/10.1016/s0268-960x(05)80017-7)
 40. Smith LJ. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Clin Lab Sci* [Internet]. 2004;17(3).

Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15314892/>

41. Ross A, Rudd D, Wight J. Low flow: Selecting a limited flow cytometry panel where resources are constrained. *Blood Rev.* 2025 Jul;72:101284. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.blre.2025.101284>.

42. Asociación Colombiana de Hematología y Oncología et al. Hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN) Consenso Andino 2025. Disponible en: <https://amci.org.co/wp-content/uploads/2025/04/Consenso-andino-HPN-2025.pdf>