

## Tecnología Hydrasys para el diagnóstico de talasemias. Algunas consideraciones epidemiológicas

Fundora-Cedeño M, Agramonte-Llanes O, Miguel-Morales M, Hernández-Martínez AC, Pérez-Diez de los Ríos G  
Instituto de Hematología e Inmunología, La Habana, Cuba.  
Email: mayfundora@hemato.sld.cu

### RESUMEN

El diagnóstico de las anemias hemolíticas de causa hereditaria está enmarcado en el estudio de las hemoglobinopatías estructurales, los trastornos cuantitativos de las hemoglobinas, así como los trastornos de la membrana del glóbulo rojo. Objetivo: Identificar las alteraciones hereditarias del glóbulo rojo más frecuentes encontradas en los pacientes con anemia hemolítica remitidos al Instituto de Hematología e Inmunología (IHI), por medio de la electroforesis en gel de agarosa. Método: Se realizó un estudio epidemiológico de todos los pacientes estudiados en el período comprendido entre enero de 2014 y diciembre de 2016. Se analizaron las variables edad de diagnóstico, sexo, hemoglobinopatía cuantitativa así como sus variantes y combinaciones. Las tres últimas se procesaron con un equipo de electroforesis de hemoglobinas Hydrasys 2, utilizando como soporte Hydragel 15 Hemoglobin (E). Resultados: Se estudio un total de 3511 pacientes, de los cuales 125 fueron patológicos. El rango de edad fue de 3 meses a 36 años, predominando el sexo femenino en un 56%. El diagnóstico de hemoglobinopatías cuantitativas combinadas con la hemoglobina S ( $S/\beta^{tal}$ ) fue de 14 pacientes para un 11,2%. Se reportaron 16 pacientes con variantes de hemoglobinas de los cuales 6(4,8%) pacientes presentaron variantes lentas y 7(5,6%) variantes rápidas, mientras que las hemoglobinopatías cuantitativas tanto  $\beta$  como  $\alpha$  fueron las que tuvieron mayor predominio con un total de 88 pacientes afectados que representó el 70,4%. Conclusiones: La determinación de las alteraciones cuantitativas de la hemoglobina es una de las causas más frecuentes de anemia hemolítica en nuestro centro y el diagnóstico electroforético es de vital importancia para su estudio.

**Palabras clave:** anemias hemolíticas, hydrasys, diagnóstico, talasemias,

## INTRODUCCIÓN

La anemia hemolítica es un grupo de trastornos hemolíticos, que causan la disminución de la masa de glóbulos rojos sanguíneos. A diferencia de anemias no hemolíticas, en las anemias hemolíticas la supervivencia de los glóbulos rojos en sangre periférica está acortada.<sup>1</sup> Las mismas pueden ser de causas hereditarias o adquiridas. Entre las hereditarias encontramos los trastornos de la hemoglobina, las membranopatías y enzimopatías.<sup>2</sup> El diagnóstico de las anemias hemolíticas de causa hereditaria está enmarcado en el estudio de las hemoglobinopatías estructurales, los trastornos cuantitativos de las hemoglobinas, los desórdenes relacionados con las alteraciones enzimáticas así como los trastornos de la membrana del glóbulo rojo, entre otros. Las talasemias son un tipo de anemia que integra este grupo y se caracterizan por una disminución de síntesis de una o más cadenas de globina. Como consecuencia, se produce una anemia microcítica e hipocroma, que es la característica clínica fundamental de los síndromes talasémicos.<sup>3</sup>

Además la disminución en la síntesis de un tipo de cadena globínica rompe el equilibrio normal entre las cadenas alfa y beta y conduce a la acumulación intracelular de una de ellas. Así, en la alfa talasemia se produce un exceso de cadenas beta y en la beta talasemia un exceso de cadenas alfa. En ambos casos, se forman precipitados intracelulares que son la causa de la destrucción precoz de los eritroblastos antes de alcanzar la maduración completa (eritropoyesis ineficaz). Así mismo, los eritrocitos que superan el trastorno madurativo, suelen presentar también abundantes precipitados de cadenas globínicas en exceso que invariablemente disminuyen su supervivencia en la circulación (hemólisis).<sup>2</sup>

Las talasemias se manifiestan de diferentes maneras según el número de genes que estén afectados; entre ellas tenemos a la beta talasemia heterocigota o menor (rasgo talasémico) que aparece cuando sólo está afectada una de las copias del gen que codifica la cadena. Es la mutación del gen beta, caracterizada por unos hematíes elevados, con concentración de hemoglobina normal o disminuida y generalmente presenta un aumento de la Hb A<sub>2</sub>.<sup>4</sup> La talasemia menor está presente desde el nacimiento, permanece durante toda la vida y puede transmitirse de los padres a los hijos.

La beta talasemia Homocigota o mayor (anemia De Cooley) es la forma más grave anemia congénita, en la que las dos copias del gen para una cadena de la hemoglobina son defectuosas, ocurre cuando no se sintetizan cadenas. En dependencia de las mutaciones genéticas beta, se producirá una cantidad nula o muy escasa de cadenas beta, y un menor o mayor número de cadenas alfa.<sup>2</sup>

La beta talasemia Intermedia condiciona la aparición de una anemia leve y alteraciones óseas. Sus manifestaciones no son tan graves como en los pacientes afectados de la forma mayor de la enfermedad.<sup>2</sup>

En la alfa talasemia son cuatro los genes que controlan la producción de la globina alfa y la cantidad de genes faltantes o anormales determina la severidad de la enfermedad. El principal mecanismo por el que se producen las alfa talasemias es la delección o pérdida total de un gen. Las formas no delecionales son menos frecuentes y obedecen a mutaciones. En este caso de la pérdida en un solo gen alfa no existe manifestación clínica. Solo se diagnostica mediante técnicas complejas de análisis de ADN.<sup>3</sup>

Por otro lado la pérdida de dos genes alfa produce un cuadro denominado talasemia menor o rasgo talasémico; no suele provocar problemas de salud importantes pero los individuos afectados pueden padecer una ligera anemia y transmitir la enfermedad a sus descendientes. Mientras que la pérdida de tres genes alfa constituye la denominada enfermedad de Hb H, esto produce anormalidades en los glóbulos rojos que derivan en su destrucción rápida. En esta enfermedad la producción de Hb A va de 25 a 30 %.en el adulto, la cadenas beta sin pareja se acumulan y forman tetrámeros b4, denominadas Hb H. Es frecuente en China e Indonesia y se han descrito también algunos casos en Italia y Sudamérica y en España.<sup>5</sup>

La pérdida de cuatro genes alfa es la denominada talasemia grave o mayor en la cual se produce la muerte del niño durante la gestación o en el periodo que sigue al parto. Esta enfermedad es incompatible con la vida del niño. Como la síntesis de la cadena

alfa falla la HbA y la HbF disminuyen y en su lugar aumentan la Hb de Bart (cuatro cadenas gamma), que tiene una extraordinaria afinidad por el O<sub>2</sub>, y casi no lo suministra a los tejidos, causando asfixia y muerte; o la Hb H (cuatro cadenas beta),<sup>3</sup>

Existen varios métodos confirmatorios que tributan al diagnóstico de dichas hemoglobinopatías entre las cuales se encuentran electroforesis en acetato de celulosa, en gel de poliacrilamida,

cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), Cromatografía por intercambio iónico, focalización isoelectrica, y más recientemente se ha desarrollado la electroforesis capilar. No obstante, la mayoría de ellos son muy laboriosos pero la obtención de los resultados es muy lenta, por lo cual para la mayor exactitud, precisión y rapidez del diagnóstico hemos utilizado para la realización de este trabajo la electroforesis en gel de agarosa.

Con el presente trabajo se pretende conocer la epidemiología de los pacientes con anemias hemolíticas que asisten al IHI, puesto que el diagnóstico de las anemias hemolíticas de causa hereditaria está enmarcado en el estudio de las hemoglobinopatías estructurales, los trastornos cuantitativos de las hemoglobinas, los trastornos de la membrana del glóbulo rojo, entre otros. Para ello nos planteamos el objetivo siguiente:

## **OBJETIVO**

Identificar las alteraciones hereditarias del glóbulo rojo más frecuentes encontradas en los pacientes con anemia hemolítica remitidos al IHI nuestro, por medio de la electroforesis en gel de agarosa.

## **MATERIALES Y MÉTODO**

Se realizó un estudio descriptivo longitudinal de todos los pacientes atendidos en el IHI o remitidos de otros hospitales y servicios de hematología del país, en el período comprendido entre enero de 2014 y diciembre de 2016. Se analizaron las variables edad de diagnóstico, sexo, hemoglobinopatía cuantitativa, así como sus variantes y combinaciones. Las muestras de sangre para el estudio (3 mL) se obtuvo por punción venosa y se recolectó en tubos con anticoagulante (heparina o ácido etilendiamino tetracético-sal disódica; EDTA-Na<sub>2</sub>). Se lavaron los glóbulos rojos 3 veces con solución salina al 0,9 %. Para la corrida electroforética se emplearon geles de agarosa pre-empacados (*kit Hydragel 15 hemoglobin (E)*) y se realizó en el equipo semiautomatizado Hydrasys 2 de la Firma Sebia (Francia). Para la tinción de las bandas de Hb se utilizó el colorante negro amido.

La información se recolectó en una ficha previamente elaborada, mediante la revisión de los diagnósticos almacenados en esos años y posteriormente se confeccionó una base de datos utilizando el programa Excel 2007.

## RESULTADOS

Se estudiaron 3511 pacientes, donde 125 pacientes fueron patológicos, el rango etáreo utilizado fue de 3 meses a 36 años, el grupo predominante fue el pediátricos con un 87 % (n=109). Se encontró que el sexo con más predominio fue el femenino con un 56 % (n=70). El diagnóstico de hemoglobinopatías estructurales específicamente S/ $\beta^{tal}$  fue de 14 pacientes para un 11,2 %. Se encontraron 16 pacientes con variantes de hemoglobinas de los cuales 6 (4,8 %) presentaron variantes lentas y 7 (5,6 %) variantes rápidas, mientras que entre las hemoglobinopatías cuantitativas tanto  $\beta$  como  $\alpha$  tuvo un mayor predominio la  $\beta$  con 88 pacientes afectados que representó el 68 % (tabla).

**Tabla 1.** Diagnósticos realizados

Diagnóstico	Total	Porcentaje
$\alpha^{tal}$	3	2,4 %
$\beta^{tal}$	88	68,0 %
S/ $\beta^{tal}$	14	11,2 %
Variante A <sub>2</sub>	10	8,0 %
Variante lenta	6	4,8 %
Variante rápida	7	5,6 %

## CONCLUSIONES

La determinación de las alteraciones cuantitativas de la hemoglobina es una de las causas más frecuentes de anemia hemolítica en nuestro centro.

El diagnóstico electroforético es de vital importancia para el estudio de las hemoglobinopatías, aunque se hace necesario el estudio molecular para precisar el mismo con mayor exactitud.

Con el procedimiento que se emplea actualmente disminuye el tiempo de entrega del informe, además de que se alcanza una mayor sensibilidad y el resultado es más confiable.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Aixalá M, Basack N, Deana A, Depaula S, Donato H, Eberie S, et al. Anemias. *Sociedad Argentina de Hematología*, 2012. p..1-78
2. Villegas A. Talasemia clasificación y diagnóstico. *Haematologica/Edición Española*. 2010;95(Extra1)23-32.
3. Viprakasit V, Tanphaichitr V S. Compound heterozygosity for alpha 0-thalassemia (- -THAI) and Hb constant spring causes severe Hb disease. *Hemoglobin*. 2002 May;26(2):155-62.
4. Zhang J, He J, Mao X, Zeng X, Su J, et al. Hematological and electrophoretic characterisation of  $\beta$ - thalassemis in Yunnan province of Southwestern China. *BMJ Open*. 2017 Jan 31;7(1):e013367. doi: 10.1136/bmjopen-2016-013367.
5. Marengo Mercado G. Caracterización clínico epidemiológica de los pacientes con diagnóstico de anemias hemolíticas en el servicio de hematología del Hospital Infantil Manuel de Jesús Rivera “La Mascota” en el período comprendido de enero 2011-diciembre 2015. (Tesis para optar por título de Pediatría), Universidad Autónoma de Nicaragua;2016.