

Gaceta Médica de México

Volumen
Volume **139**

Suplemento
Supplement **2**

Marzo-Abril
March-April **2003**

Artículo:

Anemias hemolíticas hereditarias

Derechos reservados, Copyright © 2003:
Academia Nacional de Medicina de México, A.C.

Otras secciones de este sitio:

- ☞ Índice de este número
- ☞ Más revistas
- ☞ Búsqueda

Others sections in this web site:

- ☞ *Contents of this number*
- ☞ *More journals*
- ☞ *Search*



Edigraphic.com

ANEMIAS HEMOLÍTICAS HEREDITARIAS

I. Introducción

Herminia Benítez-Aranda*

La gran mayoría de las anemias hemolíticas que se presentan en la edad pediátrica son anomalías intrínsecas del eritrocito, de carácter hereditario, se conocen como defectos intracorpusculares y que comprenden cuatro categorías: a) alteraciones de las proteínas de la membrana del eritrocito; b) defectos en la síntesis de las cadenas de las globinas; c) defectos en la síntesis de la hemoglobina; y d) alteraciones enzimáticas de los eritrocitos.

Un grupo minoritario de anemias hemolíticas se caracteriza por alteraciones externas adquiridas conocidas como defectos extracorpusculares de los eritrocitos que comprende a las anemias hemolíticas autoinmunes, anemias hemolíticas microangiopáticas (síndrome urémico-hemolítico y púrpura trombocitopénica trombótica) y las secundarias a bacterias y parásitos.

La membrana del eritrocito es un modelo del mosaico fluido propuesto por Singer y Nicolson¹ y está compuesta de proteínas y lípidos distribuidos en forma asimétrica y que interactúan entre sí para cumplir con todas las funciones de la célula. A pesar de que la membrana constituye sólo 1% del peso del total del eritrocito desempeña un papel importante para mantener la integridad de la célula. Responde a la eritropoyetina durante la eritropoyesis, aporta el hierro requerido por la célula para la síntesis de hemoglobina, retiene compuestos vitales como los fosfatos orgánicos, remueve los desechos metabólicos, previene la corrosión por el oxígeno, ayuda a regular el metabolismo eritrocitario y por último intercambia iones de cloro y bicarbonato para mantener el pH del organismo.²

La esferocitosis hereditaria constituye la anemia hemolítica hereditaria más frecuente a nivel mundial y representa el ejemplo más importante de la primera categoría de los defectos intracorpusculares mencionados previamente correspondiente a las alteraciones de las proteínas que forman el esqueleto de la membrana del eritrocito, como las espectrinas, ankyrinas, proteínas 4.1 y 4.2 y banda 3. En la revisión presentada a continuación sobre este mismo por Perea y colaboradores se menciona que hasta 30% de los pacientes estudiados en su laboratorio presentan esferocitosis hereditaria.

Por otro lado, dentro de los defectos de la síntesis de las cadenas de las globinas, destacan las talasemias que comprenden un grupo heterogéneo de alteraciones hereditarias causadas por mutaciones que afectan la síntesis de las cadenas alfa o beta de la hemoglobina. En la revisión presentada por Ibarra y colaboradores la talasemia beta representa 67% y 76% de las alteraciones de la hemoglobina estudiadas en el Centro de Investigación Biomédica de Occidente y en los Laboratorios Clínicos de Puebla, respectivamente.

Referencias

1. Singer SJ, Nicolson GL. The fluid-mosaic model of the structure of cell membranes. Science 1972; 175: 720.
2. Gallagher PG, Forget BG, Lux SE. Disorders of the erythrocyte membrane. En: Nathan DG, Orkin SH, eds. Nathan and Oski's Hematology of infancy and childhood. 5th. ed. Philadelphia: WB Saunders; 1998. p. 544-64.



* Servicio de Hematología, Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social

II. Trastornos de la membrana en anemias hemolíticas hereditarias

Bertha Ibarra-Cortés*

La membrana del eritrocito está compuesta por una bicapa lipídica y proteínas integrales unidas a un citoesqueleto proteíco. Este citoesqueleto confiere a las células sus propiedades mecánicas como la deformación elástica al pasar por capilares de diámetro inferior al de las células. Está conformado por aproximadamente 15 proteínas principales e innumerables proteínas menores, que se dividen en 2 grupos: a) proteínas integrales de la membrana que incluyen la proteína intercambiadora de aniones (también llamada proteína 1 o banda 3), y las glucoforinas que portan antígenos de superficie glucoproteicos; y b) proteínas periféricas de la membrana citoplasmática, que incluyen proteínas estructurales como espectrinas, ankirinas, actinas y enzimas eritrocitarias.

El citoesqueleto eritrocitario es una malla bidimensional formada por tetrámeros de espectrina, unidos por la proteína 4.1 y filamentos cortos de actina y desmina a las glucoforinas. Esta malla se enlaza a la membrana por la unión de las espectrinas a las ankirinas y éstas a la banda 3 a través de la interacción entre la proteína 4.2. El citoesqueleto es el principal determinante de la forma, fuerza y flexibilidad del eritrocito y ayuda a controlar la organización lipídica, la movilidad de las proteínas integrales y su topografía.

Las proteínas que con mayor frecuencia se han visto asociadas con Esferocitosis Hereditaria Son:

- a) Banda 3 o Proteína intercambiadora de aniones.
- b) Espectrinas (α y β).
- c) Ankirinas.
- d) Proteína 4.1.
- e) Proteína 4.2 o Pallidina.

Se conoce el peso molecular de al menos 20 proteínas de membrana, para 18 de ellas se sabe su localización cromosómica y en 10 ha sido analizada la secuencia de ADN.

Esferocitosis hereditaria

La Esferocitosis Hereditaria (EH) es una anemia hemolítica hereditaria debida a un defecto intrínseco de la membrana del eritrocito, caracterizada por eritrocitos densos, osmóticamente frágiles y esféricos que son atrapados selectivamente en el bazo. Esta enfermedad se ha

observado en todas las razas, sin embargo, es particularmente común en norteamericanos con una prevalencia de 1:2000 nacimientos y en europeos con una prevalencia de 1:5,000 nacimientos, esta frecuencia pudiera estar subestimada al considerar la frecuencia del 1% de fragilidad osmótica elevada observada en donadores de sangre. Aproximadamente el 75 % de las familias afectadas muestran un patrón de herencia autosómico dominante y el 25 % restante un patrón autosómico recesivo o son casos esporádicos.

Hematológicamente, después del período neonatal, la mayoría de los pacientes desarrollan una hemólisis parcialmente compensada, reticulocitosis, esferocitos, concentración media de Hb y fragilidad osmótica elevada. Los pacientes con la forma autosómica dominante común tienen anemia moderada, esplenomegalia modesta, crisis aplásicas e ictericia intermitente, ocasionalmente pueden manifestar anemia severa con altos requerimientos transfusionales, por lo general la forma recesiva es más severa. Otras complicaciones incluyen ictericia neonatal, úlceras maleolares, miocardiopatías y litiasis. La hemólisis puede hacerse más evidente después de una actividad física intensa probablemente debido al aumento del flujo sanguíneo esplénico. La severidad clínica es heterogénea debido a una amplia variedad de mutaciones en las diferentes proteínas que conforman el citoesqueleto eritrocitario.

Con base en estudios cuantitativos de las proteínas membranales, en EH se presentan 3 tipos principales de alteraciones: a) en el 30 a 60 % de los casos, el defecto bioquímico es debido a la deficiencia combinada de espectrinas y ankirinas y se presenta en forma dominante o recesiva, la deficiencia se correlaciona con la severidad de la hemólisis y la respuesta a la esplenectomía, con frecuencia, la forma recesiva es más severa. Recientemente se ha demostrado que esta deficiencia es debida a un defecto en las ankirinas, la forma dominante es debida a mutaciones sin sentido o por desviación del marco de lectura que ocasionan ausencia de la proteína, la forma recesiva es debida principalmente a mutaciones en el dominio regulatorio; b) La deficiencia de la banda 3 se ha observado del 15 al 40% de los casos, sólo en forma dominante y se caracteriza por una reducción selectiva de la B3 en eritrocitos; c) Deficiencia de la proteína 4.1 ó 4.2 en forma recesiva, y de espectrina b en la forma

*División de Genética, Centro de Investigación Biomédica de Occidente, CMNO, IMSS, Guadalajara, Jal. México

dominante, cada una se ha observado en menos del 5 % de los pacientes estudiados. Con algunas variaciones en diferentes poblaciones, por ejemplo, en Japón los defectos de banda 3 y proteína 4.2 son más frecuentes que los defectos de ankirinas.

La comprensión de la heterogeneidad clínica de la EH considera los siguientes aspectos: a) los desórdenes con expresión clínica notable son ocasionados por la interacción de dos alelos diferentes en *trans*, mientras un alelo causa síntomas moderados, el otro es silente, dando por resultado que el número de alelos potencialmente patogénicos sean más importantes de lo que se sospecha; b) La reducción o pérdida de una proteína dentro del múltiple ensamblaje proteico conduce a inestabilidad del citoesqueleto con la posible desaparición de otras proteínas diferentes a la proteína defectuosa; c) los genes mutantes que se expresan en tejidos no eritroides, permiten distinguir condiciones multisindrómicas que se adicionan a las manifestaciones hematológicas.

Debido a que en la actualidad, los métodos aplicados al estudio molecular de los componentes de la membrana eritrocitaria no pueden ser utilizados en la práctica diaria, el diagnóstico de las alteraciones de la membrana se basa en el empleo de métodos indirectos capaces de poner de manifiesto modificaciones en sus propiedades físicas tales como medir los parámetros sanguíneos por medio de una citometría hemática, la capacidad para resistir la hipotonía del medio, que se detecta con la prueba rosa, la resistencia a cambios de temperatura que se detecta con la prueba de criohemólisis, o si se cuenta con la tecnología suficiente, se puede realizar el análisis densitométrico de las proteínas que forman la membrana del eritrocito por medio de electroforesis en gel de poliacrilamida.

Esferocitosis hereditaria en México

Los estudios realizados en nuestro país sobre los defectos de membrana eritrocitaria son escasos, en nuestro laboratorio hemos encontrado que aproximadamente el 30 % de los pacientes con sospecha de anemia hemolítica tienen EH.

Recientemente hemos analizado las proteínas de membrana en geles de poliacrilamida y encontramos que las deficiencias proteicas más frecuentes son: espectrinas α , Banda 3, ankirinas, proteína 4.2 y proteína 4.1, encontramos además que aproximadamente el 40 % de los casos son dominantes y el resto recesivo, *de novo* o indeterminado.

A la fecha hemos realizado el análisis molecular de dos genes: ankirina (ANK1) y Banda 3 (AE1). El análisis de mutaciones en el gen ANK1, ha permitido la identificación de una mutación neutra y sin sentido en el exón 26, A944T en una familia, un alelo que hemos considerado como recesivo por presentarse además en la madre y un hermano sano, y que asociado a otra mutación desconocida se expresa como Esferocitosis Hereditaria en el *propositus*. En el gen de la proteína Banda 3 hemos identificado 4 posibles mutaciones nuevas, dos de ellas por desviación del marco de lectura y 7 cambios en la secuencia del gen que pueden ser SNP's o mutaciones.

Si bien el manejo clínico de la esferocitosis no depende directamente de la patología molecular, la heterogeneidad molecular observada permitirá establecer una mejor correlación entre el fenotipo clínico y la patología molecular de los genes involucrados directa o indirectamente con la Esferocitosis Hereditaria.

III. Talasemias

Bertha Ibarra-Cortés*

La talasemia se ha considerado como una enfermedad autosómica recesiva, caracterizada por anemia hemolítica microcítica e hipocrómica, que se desarrolla como consecuencia de un defecto en la síntesis de las cadenas globínicas a nivel de transcripción, procesamiento y maduración del RNAm, traducción ó de la proteína. Los 2 tipos más comunes por su alta frecuencia en el mundo (3 % de la población mundial de

acuerdo a los reportes de la OMS) son las talasemias α y β , en ambos casos se han descrito por delección de grandes segmentos de DNA que incluyen genes completos ó pequeños segmentos, sin embargo la talasemia α por delección se ha descrito en más del 90 % de los portadores, mientras que más del 95 % de los portadores de talasemia β tienen como causa una mutación puntual.

*División de Genética, Centro de Investigación Biomédica de Occidente, CMNO, IMSS, Guadalajara, Jal. México

Talasemias a

Con base a que el humano posee cuatro genes que codifican para las globinas a por genoma diploide, las talasemias a se clasifican de acuerdo a los genes afectados. Talasemia- α -1 (Tal- α -1) si los dos genes de un cromosoma están afectados y Tal- α -2 si sólo uno de ellos se altera.

Fenotipo Clínico y Hematológico de Talasemia- α

El fenotipo clínico y hematológico de los portadores de Tal- α varía de acuerdo al número de genes afectados.

- A. Los portadores de tres genes globínicos afuncionales son denominados como portadores silenciosos ó heterocigotos para Tal- α -2, (-/αα). Estos pacientes cursan con un fenotipo prácticamente normal, el volumen corporcular medio (VCM) y la hemoglobina corporcular media (HCM) están ligeramente disminuidos respecto a los valores para un individuo normal, y sólo se observa un pequeño déficit en la síntesis de las globinas a. El diagnóstico es usualmente inferido del estudio de padres de individuos con Hb H.
- B. Portadores de dos genes globínicos funcionales. Los heterocigotos para Tal- α -1 (- / αα) u homocigotos para Tal- α -2 (-/α-). Estos individuos presentan un cuadro clínico benigno. Los hallazgos hematológicos son prácticamente indistinguibles en los dos genotipos encontrados en los diferentes grupos raciales. Los individuos afectados son detectados mediante examen hematológico de rutina o durante estudios familiares de pacientes con talasemia. Estos individuos se caracterizan por la presencia de microcitosis e hipocromía en los eritrocitos con un grado moderado de anisocitosis y poikilocitosis. El nivel de Hb puede estar cerca de lo normal o significativamente disminuido (10 a 12 g/dL) por lo que la médula ósea incrementa la actividad y da como resultado aumento en la cantidad de eritrocitos (más de $5 \times 10^{12}/L$). Los heterocigotos para Tal- α -2 durante el período neonatal, suelen tener niveles de 1 a 2 % de Hb Bart's (γ_4) y los heterocigotos para Tal- α -1 niveles de 5 a 6 %. Despues de los 6 meses de edad, la Hb Bart's no es detectable en ninguno de estos tipos de Tal- α .
- C. Portadores de un gen globínico a funcional, o heterocigotos compuestos para Tal- α -1 y Tal- α -2 de tipo deletacional (-/-α) o mutación puntual (-/α^Tα). Se caracterizan por anemia severa con una tasa en la síntesis de globinas marcadamente desbalanceada; la reducción o ausencia de estas globinas afecta la síntesis de Hb en la vida fetal y adulta. Una tasa reducida en la síntesis de globinas α en la vida fetal resulta en un exceso de globinas γ las cuales forman el tetramero γ_4 ó Hb Bart's. Mientras que en la vida adulta una deficiencia de globinas α resulta en un exceso de globinas β las cuales forman un tetramero β_4 ó Hb H. Esta condición se caracteriza por una anemia hemolítica crónica de gravedad variable, muchos pacientes tienen un nivel de Hb de aproximadamente 8 a 10 g/dl, con reticulocitosis moderada (5 a 10 %). Usualmente presentan esplenomegalia. La anemia puede llegar a ser más severa durante el embarazo, infección o después de la ingestión de drogas oxidantes, las cuales aceleran la oxidación y precipitación de Hb H. El diagnóstico en el recién nacido puede establecerse por electroforesis de Hbs, ya que presenta aproximadamente 20 a 40 % de Hb Bart's la cual gradualmente se reemplaza por Hb H. Los niños de edad más avanzada y los adultos tienen niveles de Hb H entre 5 y 30 %. Tanto la Hb Bart's como la Hb H migran más rápidamente que la Hb A en una electroforesis a pH de 8.6. Los valores de Hb A₂ son de 1 a 1.5 %. Los estudios de familias con pacientes con Hb H usualmente revelan que un parente tiene hallazgos hematológicos característicos de heterocigoto para Tal- α -1, mientras que el otro es hematológicamente normal siendo un individuo "portador silencioso" de un gen para Tal- α -2.
- D. La ausencia de los 4 genes globínicos afuncionales u homocigoto para Tal- α -1 (---) es incompatible con la vida extrauterina ya que conduce a Hidropsia Fetal. El feto afectado, usualmente se aborta prematuramente, nace muerto o muere a las pocas horas después del nacimiento, es hidrópico con marcada anemia y hepatoesplenomegalia. Este síndrome ocurre principalmente en individuos del Sudeste de Asia, aunque se han descrito casos aislados en otras poblaciones como Grecia y Chipre. No se han descrito casos en personas con ancestros africanos. La sangre periférica de estos individuos se caracteriza por tener hipocromía y reticulocitosis; en el análisis electroforético, la Hb predominante es la Hb Bart's. Además se han encontrado pequeñas cantidades de Hb Hy 10 a 20 % de otros componentes

con movilidad electroforética similar a la Hb A, como la Hb Portland ($\zeta_2 \gamma_2$). La Hb Bart's tiene muy alta afinidad por el O₂ similar a la Hb H, así el volumen de la Hb presente en estos infantes no puede aportar con efectividad el O₂ a los tejidos. La causa del cambio hidrópico y muerte es la hipoxia severa.

Talasemias β (Tal β)

Este tipo de talasemias se clasifica en dos variedades principales: talasemia β^0 (tal- β^0) y talasemia β^+ (tal- β^+), las cuales se caracterizan por ausencia o disminución en la producción de globinas β respectivamente. Las mutaciones que conducen a tal- β^+ son divididos en graves e intermedios al considerar el grado de afectación a la síntesis de globinas.

La Tal β muestra una considerable heterogeneidad clínica y fenotípica revelada por los parámetros hematológicos y bioquímicos. Con base en el estado clínico de los pacientes son clasificadas en:

- Talasemia mayor (dependiente de transfusión): ocasionada por la presencia de dos alelos anormales homocigotos β^0/β^0 ó β^0/β^+ . Los pacientes homocigotos β^0/β^0 presentan un cuadro clínico descrito primeramente por Thomas Cooley en 1925 (por lo que se le denominó anemia de Cooley), caracterizada por inicio progresivo y grave en los primeros meses de vida con anemia hemolítica severa, hepatoesplenomegalia, retraso en el desarrollo, prominencia de cráneo y sobrecrecimiento de la región maxilar con facies mongoloide. Como en todas las anemias hemolíticas crónicas pueden ocurrir crisis aplásticas o se puede presentar deficiencia de ácido fólico. Sin transfusiones la esperanza de vida no sobrepasa los 5 años de edad. Las alteraciones clínicas producidas por la sobre carga de hierro son:
 1. Cardiacas: arritmias, insuficiencia cardíaca congestiva y pericarditis.
 2. Endocrinas: retraso en crecimiento y la maduración sexual, Hipotiroidismo, hipoparatiroidismo, diabetes mellitus y esterilidad.
 3. Cirrosis hepática y coloración bronceada en piel.

La Hb se encuentra entre los 5 a 6 g/dL y es prácticamente Hb F con una porción de HbA₂ cercana al 2.0%. En los dobles heterocigotos β^0/β^+ la HbA oscila entre 5 a 30% de acuerdo al tipo de alelo β^+ si es grave o intermedio.

- Talasemia intermedia (de gravedad intermedia): debida a la presencia de dos alelos β^+ intermedios ó por un alelo β^0 y otro β^+ leve. Los pacientes presentan un moderado grado de anemia y no requieren transfusiones. El

diagnóstico se realiza después del primer año de vida por un aumento en el número de células rojas, acompañado de hipocromía, microcitosis y un aumento de HbF que varía entre 40 a 50% y Hb A₂ (entre 3.5 y 5.5%). La deficiencia de folatos o el hiperesplenismo producen una exacerbación de la anemia. En raras ocasiones se presentan úlceras en las piernas, cálculos renales por el incremento de la excreción de uratos, aumento en los depósitos de hierro, e hiperesplenismo que obligue a esplenectomía. Cuando se asocia con tal-a el cuadro clínico es más moderado.

- Talasemia menor (asintomáticos): Es originada por un solo alelo mutado $\beta^+/\beta\text{A}$ ó $\beta^0/\beta\text{A}$, y se presenta con manifestaciones clínicas ligeras o es asintomático. Estos pacientes pueden pasar desapercibidos o son captados de forma fortuita durante estudios de anemia microcítica hipocrómica sin respuesta a tratamiento con hierro, durante el embarazo, o en estudios familiares de un paciente con talasemia mayor. El diagnóstico se realiza por la presencia de anemia y la característica bioquímica patognomónica es un aumento en los niveles de Hb A₂ y en raras ocasiones de la Hb F. Es importante realizar diagnóstico diferencial entre tal- β^+ deficiencia de hierro, debido a que es común confundir estas dos enfermedades y suministrar tratamiento con hierro durante largos períodos a los portadores de tal- β .

Patofisiología de la Talasemia β

La gravedad de la enfermedad en tal- β se correlaciona con el grado de desbalance entre las globina- α y globina no- α (globina- γ , globina- δ y globina- β), y la cantidad de globinas- α libres. En tal- β , la síntesis normal de globinas α continúa dando como resultado la acumulación excesiva de globina- α dentro de células eritroides. Las globinas- α libres no forman tetrámeros viables y por consiguiente se precipitan en la membrana celular, formando cuerpos de inclusión. Estas inclusiones son observadas por microscopía electrónica ó de luz en las células precursoras eritroides localizadas en la médula ósea y en eritrocitos periféricos cuando el paciente está esplenectomizado. Estas inclusiones son responsables de la destrucción intramedular de los precursores eritroides y de eritropoyesis inefectiva que caracteriza a toda tal- β . Aunque la anemia es debida primariamente a eritropoyesis inefectiva, también hay un componente hemolítico relacionado con la destrucción en la circulación de eritrocitos maduros que contienen inclusiones de globinas- α .

La hemólisis periférica es debida a dos causas: a) daño físico a la membrana celular por las inclusiones rígidas presentes; y b) anomalías metabólicas del eritrocito provocadas por el estrés oxidativo.

Así, la gravedad de la enfermedad en el estado homocigoto puede ser modulada por varios factores: a) la naturaleza de la mutación, siendo más grave la tal- β^0 (genotipo β^0/β^0) que la tal- β^+ (genotipos β^0/β^+ ó β^+/β^+); b) la co-herencia de tal- α , la cual conduce a la reducción del exceso de globinas- α libres y de cuerpos de inclusión; y c) la co-herencia de factores genéticos que incrementan la producción de globinas- γ , que al combinarse con globinas- α forman HbF, disminuyendo el exceso de globinas α .

Talasemias en México

La talasemia b está presente en 67 % y 76 % de los pacientes con desórdenes de la hemoglobina estudiados en el Centro de Investigación Biomédica de Occidente y en los Laboratorios Clínicos de Puebla respectivamente. En nuestro Centro de Investigación hemos analizado la

patología molecular de 80 cromosomas entre los cuales hemos encontrado 17 alelos distintos (β^0 y β^+), incluyendo una nueva mutación, delección de una citosina en el codón 77. 6 mutaciones constituyen el 77.5 % de los alelos observados. La mayoría de ellos se han considerado de origen Mediterráneo (10), 3 de origen Asiático, 3 se han considerado como alelos privados, uno de ellos particularmente de origen Curdo, y el alelo restante, a la fecha sólo se ha encontrado en nuestra población.

Para Talasemia α hemos encontrado 4 alelos diferentes: Deleción de 3.7 Kb (-a), a_2 IVS1 -5pb a_2^{Hph} , —SEA y —FIL.

El espectro de mutaciones observado en nuestra población, es característico de las poblaciones con baja frecuencia de talasemias, sin embargo hace patente la necesidad de considerar la presencia de Talasemia al realizar el diagnóstico diferencial de anemia microcítica hipocrómica.