

Anemias hemolíticas hereditarias desde la perspectiva de un laboratorio de referencia del Norte de México

Fernando García-Rodríguez,* Laura Nely Rodríguez-Romo,* Álvaro Gómez-Peña, Odra Martínez-González,* Sylvia Aide Martínez-Cabriales,* Óscar González-Llano,* José Carlos Jaime Pérez,* Consuelo Manías-Guerra,* David Gómez-Almaguer*

RESUMEN

Antecedentes: existen pocos datos de la incidencia de hemoglobinopatías y alteraciones de la membrana eritrocitaria en el noreste de México.

Objetivo: describir los resultados anormales en las pruebas de fragilidad osmótica y electroforesis de hemoglobina reportados por nuestro laboratorio.

Material y método: estudio retrospectivo y análisis de los resultados de electroforesis de hemoglobina de pacientes atendidos de junio de 2004 a enero de 2010 y de fragilidad osmótica de enero de 2003 a enero de 2010 reportados por el Laboratorio del servicio de Hematología del Hospital Universitario Dr. José E. González de Monterrey, México.

Resultados: se evaluaron 243 resultados de electroforesis de hemoglobina de 225 pacientes, 134 (59.6%) reportes fueron anormales: 96 (42.6%) talasemias, 28 (12.4%) alteraciones por Hb S, 6 (2.7%) alteraciones compuestas (talasemia/Hb S), 3 (1.3%) persistencias hereditarias de Hb F y 1 (0.4%) alteración por Hb C. Se reportaron 208 resultados de fragilidad osmótica de 201 pacientes con una mediana de edad de 16 (0 - 77) años, 91 (45.3%) mujeres y 110 (54.7%) hombres. Un total de 96 (47.8%) reportes fueron anormales.

Conclusiones: la solicitud de pruebas de electroforesis de hemoglobina y fragilidad osmótica en sólo 225 y 201 pacientes en más de cinco años muestra una aparente baja incidencia de estas alteraciones en la región. Las hemoglobinopatías se diagnosticaron en sólo 134 de los reportes, lo que refleja que la electroforesis de hemoglobina se solicita sin una sospecha clínica fundamentada en muchos de los casos. Nuestros datos sugieren que la esferocitosis hereditaria es la alteración hemolítica más frecuente en pacientes con anemia en el noreste del país. La β -talasemia es la hemoglobinopatía más frecuente.

Palabras clave: anemias hemolíticas hereditarias, laboratorio de referencia, pruebas de electroforesis de hemoglobina y fragilidad osmótica.

ABSTRACT

Background: The frequency of hereditary anemia in northeast of Mexico has not been studied, trying to reach that goal, at least partially, we analyze the osmotic fragility (OF) and hemoglobin electrophoresis (EHb) results reported by our laboratory, in order to identify how many patients with hemoglobinopathies and hereditary spherocytosis were detected in the last 5 years.

Methods: We analyzed the EHb results between June/2004 and January/2010, and OF results between January/2003 and January/2010 reported by the Laboratory of Hematology Service at the University Hospital Dr. José E. Gonzalez in Monterrey, México.

Results: We evaluated 243 EHb reports from 225 patients, 134 (59.6%) were abnormal: 96 (42.6%) thalassemias, 28 (12.4%) HbS presence, 6 (2.7%) thalassemia/HbS, 3 (1.3%) hereditary persistence of HbF and 1 (0.4%) HbC presence. We analyzed 208 OF results from 201 patients, 96 (47.8%) reports were positives, with a median age of 16 (0 - 77) years, 91 (45.3%) were female and 110 (54.7%) male.

Conclusion: The request of this tests in only above 200 patients over more than five years show the low incidence of these diseases in the region; on the other hand, hemoglobinopathies were diagnosed in just 134 cases, being β -thalassemia the most frequently disease reported. Our data suggests that hereditary spherocytosis is the most common hemolytic anemia in the northeast of Mexico.

Key words: hereditary anemia haemolytic, laboratory reference, hemoglobin electrophoresis test.

* Servicio de Hematología del Hospital Universitario Dr. José E. González de la Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, NL, México.

Correspondencia: Dr. Fernando García Rodríguez. Servicio de Hematología del Hospital Universitario Dr. José E. González de la UANL. Av. Madero y Gonzalitos S/N, colonia Mitras Centro 64460 Monterrey, NL. Correo electrónico: pa_fer@hotmail.com

Recibido: julio, 2010. Aceptado: julio, 2010.

Este artículo debe citarse como: García Rodríguez F, Rodríguez-Romo LN, Gómez-Peña A, Martínez-González O, y col. Anemias hemolíticas hereditarias desde la perspectiva de un laboratorio de referencia del Norte de México. Rev Hematol Mex 2010;11(3):136-140.

La prevalencia de anemia en nuestro país se ha reportado en cifras tan alarmantes como 50% y 36.2% de niños menores de dos años en 2003¹ y 2009,² respectivamente; y si bien es cierto que en más de la mitad de los casos la causa es por deficiencia de hierro,^{3,4} es indiscutible la importancia de conocer las características demográficas de las anemias hereditarias en nuestro medio, ya que en muchos de los casos serán parte del diagnóstico diferencial de las anemias.

Las hemoglobinopatías se definen por la coexistencia de anormalidades cualitativas o cuantitativas, o ambas, en las cadenas de globina.⁵ A la fecha se han descrito más de 700 variantes de hemoglobina.^{5,6,7} Las alteraciones cualitativas se deben a la producción de una estructura anormal de la hemoglobina; las más conocidas son: hemoglobinas S (causante de drepanocitosis), hemoglobina C y hemoglobina E, por las consecuencias biológicas que conllevan.⁶ Las anormalidades cuantitativas resultan de la reducción o ausencia de síntesis de las cadenas α o β de la globina, lo que define a las talasemias α y β , respectivamente.⁵ En las talasemias α , el defecto molecular más común es la delección de uno, dos o tres de los cuatro alelos en el locus α .^{8,9,10} En contraste las talasemias β son consecuencia de mutaciones puntuales que afectan a uno o ambos genes β .¹¹

Las hemoglobinopatías son las enfermedades hereditarias más comunes en la población mundial; cerca de 4.5% de las personas son portadoras de un gen para talasemia o hemoglobinas anormales.^{12,13} A pesar de que las regiones donde más comúnmente se observan estas anormalidades son las zonas mediterráneas, el incremento en la migración ha permitido que estas alteraciones existan en individuos de otras áreas del planeta.¹⁴⁻¹⁸ Está reportado que en México existe una prevalencia de hemoglobinopatías de 1.25 a 26.1%,^{19,20} donde la β -talasemia¹⁹ y la Hb S²⁰ son los hallazgos más frecuentes.

Las alteraciones de la membrana eritrocitaria resultan de anomalías genéticas que comúnmente involucran la producción de las proteínas anquirina, espectrina, banda 3 y proteína 4.2.²¹ La esferocitosis hereditaria es un tipo de anemia hemolítica caracterizada por incremento de la fragilidad osmótica de los eritrocitos, que provoca su destrucción al pasar por el bazo.^{21,22} Los eritrocitos enfermos pierden áreas de su membrana mientras atraviesan la trama vascular esplénica transformando su forma elíptica habitual en una esférica (esferocitos), lo que

incrementa la densidad celular y disminuye su capacidad elástica.²¹

La esferocitosis hereditaria es la enfermedad hemolítica hereditaria más común entre las personas descendientes de europeos, con una prevalencia en Estados Unidos de 1 por cada 2,000 nacimientos,²¹ mientras que en el norte de Europa se reporta en 1:5000,^{23,24} de los que 75% de los casos muestran patrón de herencia autosómico dominante.²⁴

Puesto que en el Noreste de México existen pocos datos de incidencia de hemoglobinopatías y alteraciones de la membrana eritrocitaria el objetivo de este trabajo es describir los resultados anormales en las pruebas de fragilidad osmótica y electroforesis de hemoglobina reportados por el Laboratorio del servicio de Hematología del Hospital Universitario Dr. José E. González en Monterrey, NL.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio retrospectivo y análisis de los resultados de electroforesis de hemoglobina realizados en el periodo de junio 2004 a enero 2010 y de fragilidad osmótica de enero de 2003 a enero de 2010 reportados por el Laboratorio del Servicio de Hematología del Hospital Universitario Dr. José E. González de la Universidad Autónoma de Nuevo León en Monterrey, NL, México. Las muestras recibidas por el Laboratorio provenían de más de diez centros y laboratorios en el noreste del país. Los resultados se evaluaron por medio de estadística descriptiva y se analizaron las características demográficas de los pacientes tratados en nuestro centro.

Electroforesis de hemoglobina

Es una prueba útil para el diagnóstico y seguimiento de hemoglobinopatías. Detecta las principales variantes de hemoglobina, mediante electroforesis en geles de agarosa tamponados alcalinos (pH=8.5) y teñido con negro amido o azul ácido. A través de la densitometría se realiza la interpretación de los patrones electroforéticos y se obtiene una cuantificación relativa de las hemoglobinas. Posteriormente se hace una electroforesis en gel ácido, para confirmar la identificación de las variantes de la hemoglobina, principalmente para diferenciar Hb D, Hb E y Hb C de Hb A2. Los valores de referencia para Hb A son 96.5-98.1%, Hb F 0%, Hb S 0% y Hb A2 1.9-3.5%.

Fragilidad osmótica

Es una prueba para la valoración de la integridad de la membrana eritrocitaria en exposición a un medio hipotónico. Proporciona una medida precisa de qué tan esférico es un eritrocito en el momento de la exposición al medio hipotónico y esta hemólisis se alcanza a concentraciones de NaCl más altas en eritrocitos con tendencia a la esfericidad.

La prueba se realiza exponiendo los eritrocitos del paciente y de un testigo normal a soluciones hipotónicas de NaCl de diversa concentración de 0 a 100% y midiendo cuantitativamente la hemoglobina liberada y la magnitud de la hemólisis. La metodología es por espectrofotometría con espectrofotómetro de Coleman con 0.00-2 de absorbancia en densidad óptica. Los reactivos son NaCl al 0.9% y agua destilada.

Un resultado positivo es cuando el porcentaje de NaCl del paciente es 10 puntos mayor que el porcentaje del testigo de hemólisis; lo cual es compatible con esferocitosis hereditaria. Si el porcentaje de NaCl del testigo es mayor que el porcentaje de NaCl del paciente al 50% de hemólisis, indica eritrocitos resistentes en el paciente, característico de la talasemia.

RESULTADOS

Se evaluaron 243 resultados de electroforesis de hemoglobina de 225 pacientes. La mediana de edad fue 20 (0-85) años, 118 (52.4%) de sexo femenino y 107 (47.6%) masculino. Los años con mayor cantidad de pruebas fueron 2007 (61, 27.1%) y 2009 (55, 24.4%). Se realizaron en promedio 20.2 pruebas por mes. 134 (59.6%) reportes fueron anormales, con 96 (42.6%) pruebas con datos de talasemias, 28 (12.4%) alteraciones por presencia de Hb S únicamente, 6 (2.7%) con alteraciones compuestas (talasemia/Hb S), 3 (1.3%) persistencias hereditarias de Hb F (PHHbF) y 1 (0.4%) alteración por Hb C (Cuadro 1). Predominaron los resultados anormales en los meses de junio y septiembre (16, 12.2%). La mediana de edad para los resultados anormales fue 14.5 (0 - 74) años, con mayor frecuencia en hombres (55.7%). La mediana de los porcentajes de hemoglobinas fueron: Hb A1 95.3%, Hb A2 3.6%, Hb S 0%, Hb F 0%.

Se reportaron 208 resultados de fragilidad osmótica de 201 pacientes con una mediana de edad de 16 (0 - 77) años, 91 (45.3%) mujeres y 110 (54.7%) hombres. Los

Cuadro 1. Frecuencia de resultados de electroforesis de hemoglobinas

| Alteración | Pruebas | % |
|---------------|--------------------------|------|
| Normal | 91 | 40.4 |
| Talasemias | B-talasemia portador | 37.8 |
| | B-talasemia homocigoto | 0.4 |
| | B-talasemia heterocigoto | 2.2 |
| | A-Talasemia portador | 1.3 |
| | A-Talasemia | 0.9 |
| Hemoglobina S | Drepanocitosis | 3.6 |
| | Rasgo drepanocítico | 8.9 |
| | Talasemias / Hb S | 2.7 |
| PHHbF | 3 | 1.3 |
| Hb C | 1 | 0.4 |
| Total | 225 | 100 |

años con mayor cantidad de pruebas fueron 2006 (39, 19.4%) y 2009 (36, 17.9%). Se realizaron, en promedio, 17.3 pruebas por mes. Se reportaron 96 (47.8%) casos anormales, con media de hemólisis en 88.1% en solución de NaCl al 0.9%. La mediana de edad para los resultados positivos fue 13 (0 -77) años, con predominio del sexo femenino (54.2%).

DISCUSIÓN

En México, en el estudio del paciente con anemia no es muy común que de primera instancia se considere en el diagnóstico diferencial una anemia hemolítica. De hecho, es más fácil que el paciente sea tratado empíricamente que estudiado de manera adecuada, casi todos los hematólogos mexicanos han conocido algún paciente con anemia microcítica que ha recibido hierro oral y parenteral repetidamente, antes de ser diagnosticado con talasemia. En nuestro país existen diferencias en la frecuencia de diversas patologías y el caso de las anemias hereditarias no es la excepción, por ello decidimos conocer la información regional. Nuestros datos provienen de un laboratorio de referencia, por lo que estos resultados son de pacientes sintomáticos, en estudio por anemia microcítica o hemolítica en la mayoría de los casos, por lo que no pueden extrapolarse a la población general; sin embargo, desde esta perspectiva podemos percibir un reflejo de la frecuencia de estas alteraciones en nuestro medio.

La solicitud de pruebas de electroforesis de hemoglobina en sólo 225 pacientes en más de cinco años, teniendo como referencia una población de más de 4 millones de habitantes en el estado de Nuevo León, nos muestra la baja incidencia de estas alteraciones en la región, o bien el índice bajo de sospecha clínica. Además, como se observa en el Cuadro, las hemoglobinopatías se diagnosticaron sólo en 134 pacientes (59.5%) de las 225 pruebas solicitadas, lo que muestra el deficiente estudio clínico de los pacientes por parte del médico tratante que se ve reflejado en solicitudes excesivas.

Aún con los sesgos que pudiera implicar esta situación, la frecuencia de estas alteraciones contrasta con lo presentado por investigadores en el centro del país²⁵ donde, a pesar de estudiar un grupo extenso y con inclusión de diversas etnias, encontraron una mayor frecuencia de β -talasemias heterocigotas, mientras que nuestros datos reflejan, con ciertas reservas, una gran diferencia a favor de los portadores de β -talasemia; sin embargo, la relación entre talasemias y drepanocitosis es similar (70 y 25%, respectivamente). La relativamente elevada frecuencia de alteraciones por Hb S, a pesar de que en nuestra región no existe una gran población de raza negra, pudiera explicarse por la migración de regiones del Golfo de México,²⁰ como ha ocurrido en otros países.^{15,16} La baja frecuencia de hemoglobinopatías, como la presencia de Hb C y PHHbF son similares a las reportadas en el sur del país,²⁵ aunque mayores a las esperadas por los autores.

En relación con la fragilidad osmótica, cerca de la mitad de los resultados fueron positivos con una media de hemólisis suficiente para diagnosticar esferocitosis hereditaria; además, la mediana de edad concuerda con la encontrada por otros investigadores.²¹ La frecuencia observada en el género masculino o femenino no es diferente, lo que recuerda que la forma de herencia es autosómica dominante en la mayoría de los casos y en ninguno se liga al cromosoma X. Conviene recordar que en casos leves el diagnóstico puede pasar inadvertido por muchos años, por ello el diagnóstico se efectuó a los 77 años de edad en un paciente.

Es necesario realizar estudios prospectivos en población general para determinar la prevalencia de hemoglobinopatías y alteraciones de la membrana eritrocitaria en la región norte del país; además, también es conveniente que se establezca un registro regional o nacional y se publiquen los resultados de estos esfuerzos.

Mientras tanto, nuestros datos sugieren que la esferocitosis hereditaria es la alteración hemolítica más frecuente en pacientes con anemia en el noreste del país.

REFERENCIAS

1. Villalpando S, Shamah-Levy T, Ramirez-Silva CI, Mejia-Rodriguez F, Rivera JA. Prevalence of anemia in children 1 to 12 years of age. Results from a nationwide probabilistic survey in Mexico. *Salud Publica Mex* 2003;45 (Suppl 4):S490-498.
2. Villalpando S, Shamah-Levy T, Garcia-Guerra A, Mundo-Rosas V, et al. The prevalence of anemia decreased in Mexican preschool and school-age children from 1999 to 2006. *Salud Publica Mex* 2009;51(Suppl 4):S507-514.
3. Mendez Estrada RO, Pacheco B, Noriega Verdugo H, Quihui L, Morales G, Valencia ME. [Prevalence of iron deficiency and iron deficiency anemia in pregnant adolescents from northwest Mexico, 2007-2008]. *Arch Latinoam Nutr* 2009;59(2):147-151.
4. Duque X, Flores-Hernandez S, Flores-Huerta S, Mendez-Ramirez I, et al. Prevalence of anemia and deficiency of iron, folic acid, and zinc in children younger than 2 years of age who use the health services provided by the Mexican Social Security Institute. *BMC Public Health* 2007;7:345.
5. Clarke GM, Higgins TN. Laboratory investigation of hemoglobinopathies and thalassemias: review and update. *Clin Chem* 2000;46(8 Pt 2):1284-1290.
7. Hardison RC, Chui DH, Giardine B, Riemer C, et al. HbVar: A relational database of human hemoglobin variants and thalassemia mutations at the globin gene server. *Hum Mutat* 2002;19(3):225-233.
7. Patrinos GP, Giardine B, Riemer C, Miller W, et al. Improvements in the HbVar database of human hemoglobin variants and thalassemia mutations for population and sequence variation studies. *Nucleic Acids Res* 2004;32(Database issue):D537-41.
8. Cai R, Liu J, Wang L, Liang X, et al. Study on molecular epidemiology of the alpha-thalassemias in Liuzhou City, Guangxi Autonomous Region, China. *Hemoglobin* 2004;28(4):325-333.
9. Higgs DR, Vickers MA, Wilkie AO, Pretorius IM, et al. A review of the molecular genetics of the human alpha-globin gene cluster. *Blood* 1989;73(5):1081-1104.
10. Chong SS, Boehm CD, Cutting GR, Higgs DR. Simplified multiplex-PCR diagnosis of common southeast asian deletional determinants of alpha-thalassemia. *Clin Chem* 2000;46(10):1692-1695.
11. Cao A, Galanello R. Beta-thalassemia. *Genet Med* 2010;12(2):61-76.
12. Angastiniotis M, Modell B. Global epidemiology of hemoglobin disorders. *Ann N Y Acad Sci* 1998;850:251-269.
13. Weatherall DJ, Clegg JB. Inherited haemoglobin disorders: an increasing global health problem. *Bull World Health Organ* 2001;79(8):704-712.
14. Giordano PC, Hartevelde CL, Heister AJ, Batelaan D, et al. The molecular spectrum of beta-thalassemia and abnormal hemoglobins in the allochthonous and autochthonous dutch population. *Community Genet* 1998;1(4):243-251.

15. Hickman M, Modell B, Greengross P, Chapman C, et al. Mapping the prevalence of sickle cell and beta thalassaemia in England: estimating and validating ethnic-specific rates. *Br J Haematol* 1999;104(4):860-867.
16. Ashtiani MT, Monajemzadeh M, Sina AH, Berenji F, et al. Prevalence of haemoglobinopathies in 34,030 healthy adults in Tehran, Iran. *J Clin Pathol* 2009;62(10):924-925.
17. Casas-Castaneda M, Hernandez-Lugo I, Torres O, Barajas H, et al. Alpha-thalassemia in a selected population of Mexico. *Rev Invest Clin* 1998;50(5):395-398.
18. Ibarra B, Vaca G, Franco-Gamboa E, Garcia-Cruz D, et al. Abnormal hemoglobins in Northwestern Mexico. *Acta Anthropogenet* 1982;6(4):217-223.
19. Ruiz-Arguelles GJ, Lopez-Martinez B, Ruiz-Reyes G. Heterozygous beta-thalassemia: not infrequent in Mexico. *Arch Med Res* 2001;32(4):293-295.
20. Cobian JG, Sanchez-Lopez JY, Magana MT, Chavez ML, et al. Types and frequencies of hemoglobin disorders in the pacific coast of four states of Mexico. *Rev Invest Clin* 2009;61(5):399-404.
21. Perrotta S, Gallagher PG, Mohandas N. Hereditary spherocytosis. *Lancet* 2008;372(9647):1411-1426.
22. Sanchez-Lopez JY, Camacho AL, Magana MT, Ibarra B, Perea FJ. Red cell membrane protein deficiencies in Mexican patients with hereditary spherocytosis. *Blood Cells Mol Dis* 2003;31(3):357-359.
23. Delaunay J. The molecular basis of hereditary red cell membrane disorders. *Blood Rev* 2007;21(1):1-20.
24. Lux SE, Tse WT, Menninger JC, John KM, et al. Hereditary spherocytosis associated with deletion of human erythrocyte ankyrin gene on chromosome 8. *Nature* 1990;345(6277):736-739.
25. Zayas-Perez P, Ruiz-Reyes G. Hemoglobinas anormales identificadas en una sola institución: experiencia de 22 años. *Rev Hematol Mex* 2010;11(2):75-77.