

Primera versión: 16 de diciembre de 2002

Versión definitiva: 3 de febrero de 2003

Aceptado: 10 de febrero de 2003

Eugenio Dolores Ruiz Cruz,<sup>1</sup>  
Arcelia Hernández Maya,<sup>2</sup>  
Beatriz Nieva García,<sup>3</sup>  
Jorge García Azuara,<sup>4</sup>  
Carmela Hernández  
Carvajal,<sup>5</sup>  
Fabio Salamanca Gómez,<sup>6</sup>  
Rosenda I. Peñaloza Espinosa<sup>7</sup>

<sup>1</sup>Maestra en Ciencias Médicas

<sup>2</sup>Química clínica,  
Hospital General  
de Zona 24,

Poza Rica, Veracruz

<sup>3</sup>Química biológica  
parasitóloga,

Laboratorio Clínico,  
Hospital de Pediatría,  
Centro Médico Nacional  
Siglo XXI

<sup>4</sup>Químico farmacobiólogo

<sup>5</sup>Hematóloga

Hospital General de Zona,  
Acapulco, Guerrero

<sup>6</sup>Especialista en Genética,  
Jefe de la Unidad

<sup>7</sup>Doctora en Ciencias y  
Genética Molecular

Autores 1, 4, 6 y 7,  
adscritos a la Unidad  
de Investigación Médica  
en Genética Humana,  
Hospital de Pediatría,  
Centro Médico Nacional  
Siglo XXI,  
Distrito Federal

Comunicación con:  
Rosenda I. Peñaloza Espinosa.  
Tel.: 5627 6900,  
extensiones 6941 y 3234.  
Fax: 5761 0952.  
Dirección electrónica:  
rosenda@servidor.unam.mx

## Palabras clave

- ✓ anemia de células falciformes
- ✓ hemoglobina S
- ✓ hemoglobina fetal

## Key words

- ✓ anemia, sickle cell
- ✓ hemoglobin, sickle
- ✓ fetal hemoglobin

# Anemia de células falciformes y niveles de hemoglobina fetal

## RESUMEN

Introducción: la anemia de células falciformes (ACF) es causada por una variante del gen  $\beta$ -globina llamada hemoglobina S (*sickle* = HbS), que en estado homocigoto se traduce en la polymerización de las moléculas de hemoglobina deformando los eritrocitos y produciendo episodios de oclusión vascular, crisis dolorosas e infecciones frecuentes, que causan alta morbilidad y mortalidad. Algunos factores modifican la evolución de la enfermedad dando lugar a un cuadro clínico menos grave, por ejemplo, los niveles elevados de hemoglobina fetal (HbF) y los haplotipos Senegal y Arabia/India.

Objetivo: comparar el cuadro clínico de pacientes con ACF y niveles de HbF elevados versus ACF y niveles de HbF bajos.

Material y métodos: se estudiaron 24 pacientes homocigotos para HbS, confirmados por electroforesis en gel de agarosa a pH alcalino y ácido. Se analizaron las características clínicas y hematológicas de cada paciente formando dos grupos: 1) pacientes, con ACF y HbF elevada; 2) pacientes con ACF y HbF baja. Resultados: los pacientes con ACF y HbF elevada presentan un cuadro clínico menos grave comparados con los de HbF baja. De esta manera, las características clínicas y hematológicas que tuvieron diferencias significativas entre los grupos fueron el número de crisis dolorosas, las infecciones, la cuantificación normal de leucocitos y los niveles de hemoglobina. Otras características que solamente se observaron en aquellos pacientes con HbF baja fueron el secuestro esplénico, antes de cumplir el año de edad, las convulsiones, el mayor número de transfusiones por año, el síndrome torácico agudo y la necrosis ósea por isquemia.

Conclusiones: los pacientes con ACF y con niveles elevados de HbF tienen un cuadro clínico menos grave que aquellos que presentan niveles bajos de HbF.

## SUMMARY

Introduction: Sickle cell anemia is caused by a variant of the  $\beta$ -globin gene called sickle hemoglobin (HbS) that in homozygote state is translated into polymerization of hemoglobin molecules, deforming erythrocytes and producing episodes of vaso-occlusion, painful crises, and frequent infections, with high morbidity and mortality. Some factors modify disease evolution, producing less severe clinical course, for example, high levels of fetal hemoglobin (HbF) and Senegal and Arabia/India haplotypes.

Objective: To compare clinical severity of the disease in patients with sickle cell anemia and high levels of HbF versus sickle cell anemia and low levels of HbF.

Material and methods: A total of 24 patients homozygous for HbS were confirmed by electrophoresis in cellulose acetate to pH acid and alkaline. Clinical and hematologic characteristics of each patient were analyzed, forming two groups: 1) Patients with sickle cell disease and high HbF. 2) Patients with sickle cell disease and low HbF. Results: Patients with sickle cell anemia and high levels of HbF presented less clinical severity when compared with those who presented low HbF. Clinical and hematologic characteristics with differences significant between both groups were painful crises, infections, hemoglobin levels, and leukocyte count. Other characteristics that were only observed in patients with low HbF were splenic sequestration before first year of age, convulsions, greater number of transfusions per year, acute chest syndrome, and bone necrosis due to ischemia.

Conclusions: Patients with sickle cell anemia and high levels of fetal hemoglobin have less clinical severity than those with low levels of fetal hemoglobin.

## Introducción

La anemia de células falciformes (ACF) es causada por una variante del gen  $\beta$ -globina llamada hemoglobina *S* (*sickle* = HbS), debida a una mutación en el codón seis del gen  $\beta$ -globina (GAG → GTG), que origina la sustitución del ácido glutámico por valina.<sup>1,2</sup> Es una enfermedad con herencia autosómica recesiva, incluye el estado heterocigoto (llamado portador de ACF con una copia de HbS y otra de HbA), la condición homocigota (dos copias de HbS) y el estado de heterocigoto compuesto (una copia de HbS más otra variante de  $\beta$ -globina como hemoglobina *C, D, E* o  $\beta$ -talasemia).

La frecuencia génica en México para la variante de HbS es de 0.010 en mestizos urbanos y de 0.024 en mestizos de la costa.<sup>3</sup> La enfermedad se caracteriza por anemia crónica (entre 6 y 10 g/dL de hemoglobina) y oclusión vascular; ambas producidas por la polimerización de la desoxihemoglobina *S*. La HbS resulta menos soluble y tiende a polimerizarse al disminuir la concentración de oxígeno, provocando la rigidez y el cambio de forma de los eritrocitos que adoptan la forma de hoz (células falciformes).<sup>4</sup> Los eritrocitos falciformes condicionan aumento de la viscosidad sanguínea, lo que favorece la oclusión vascular recurrente, trombos e infartos.<sup>5</sup> Además, las crisis dolorosas, provocadas por la obstrucción de los vasos sanguíneos, pueden durar horas o días y afectar extremidades, tórax, abdomen y articulaciones; a menudo una infección desencadena la crisis de dolor.<sup>6</sup> En estos pacientes es frecuente la hemólisis de predominio extravascular, la cual causa anemia; puede concurrir con eritropoyesis disminuida ocasionando anemia aplástica. Esta complicación se debe a dos causas principalmente: la infección y la deficiencia de ácido fólico. La oclusión vascular grave se debe a efectos acumulativos de los episodios recurrentes, observándose signos de lesión anatómica o funcional en diversos órganos como pulmones, riñón, hígado, huesos y piel.<sup>7</sup>

Los niveles elevados de hemoglobina fetal (HbF  $\alpha_2\gamma_2$ ) se asocian a un curso clínico menos severo en la ACF.<sup>8</sup> Las características clínicas y de laboratorio son influidas por los niveles en sangre de HbF, debido a que la HbF es un potente inhibidor de la polimerización de la

desoxihemoglobina *S*.<sup>9</sup> La HbF forma más de 90 % de la hemoglobina circulante en el recién nacido, y su síntesis comienza a decrecer a partir del nacimiento y a ser reemplazada gradualmente por la hemoglobina del adulto (HbA  $\alpha_2\beta_2$ ), hasta constituir menos de 1 % de la hemoglobina total. Esta hemoglobina no se encuentra distribuida homogéneamente sino en un grupo de glóbulos rojos llamados células *F*.<sup>10</sup> Algunos individuos tienen predisposición genética para presentar niveles elevados de HbF, por la sobreexpresión de las cadenas  $\gamma$ -globina. Esta rara condición de persistencia hereditaria de HbF es poco frecuente en individuos con ACF.<sup>11</sup>

Los niveles de HbF elevada varían considerablemente en individuos con ACF. Aproximadamente 40 % de esta variación está dada por las células *F* ligadas al cromosoma *X*, y 14 % se asocia a uno de cinco diferentes haplotipos en la familia de genes  $\beta$ -globínicos, definidos por un grupo de alelos que segregan en forma conjunta.<sup>12</sup> Dos haplotipos se asocian con la forma más benigna de la enfermedad: el Senegal y el Árabe/India; el haplotipo Benin se asocia con una forma moderada de la enfermedad; los haplotipos República de África Central (CAR = Bantú) y Camerún se asocian con la forma más grave de la enfermedad.<sup>13</sup> Los haplotipos más frecuentes en México son el Bantú y Benin.<sup>14</sup>

El objetivo del presente trabajo es analizar las características clínicas y hematológicas de dos grupos de pacientes con ACF: uno con HbF elevada y otro con baja.

## Material y métodos

Entre enero de 2000 y julio del 2001 se identificaron 24 pacientes con ACF en los hospitales generales de zona de Acapulco, Guerrero, y Poza Rica, Veracruz, del IMSS. Se confirmó el diagnóstico del ACF y se clasificó la gravedad del cuadro clínico de acuerdo con la evaluación clínica y hematológica. Dicha evaluación comprende revisión del expediente clínico, historia clínica, biometría hemática completa y electroforesis con acetato de celulosa a pH ácido y alcalino, para cuantificación y tipificación de hemoglobinas. Se excluyeron los pacientes con transfusión reciente (> 10 % de hemoglobina *A*).

## Definición de eventos clínicos

- **Crisis dolorosas:** dolor en extremidades, abdomen, tórax o articulaciones, con duración mínima de dos horas, el cual requiere cuidados médicos.
- **Síndrome torácico agudo:** infiltrado pulmonar observado en radiografías, dolor pleurítico, fiebre y síntomas de enfermedad pulmonar como disnea y taquipnea.
- **Necrosis ósea por isquemia:** dolor en hombro o cadera con daño funcional y radiografía anormal.
- **Priapismo:** erección dolorosa persistente.
- **Alteraciones neurológicas:** convulsiones o isquemia, confirmadas en el servicio de Neurología con criterios clínicos, de imagen y electroencefalograma.
- **Secuestro esplénico:** modificación súbita del hematocrito o nivel de hemoglobina por debajo de 20 % de los niveles basales, con incremento simultáneo en el tamaño del bazo, el cual es palpable dos centímetros debajo del borde costal.

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante estadística descriptiva y prueba exacta de Fisher y se compararon los cuadros clínicos de pacientes con ACF y HbF elevada *versus* pacientes con ACF y HbF baja.

## Resultados

El rango de edad en los pacientes fue de 2 a 20 años, 13 fueron mujeres (54.2 %); 19 originarios de Guerrero y cinco de Veracruz. Cinco pacientes presentaron HbF alta (rango de 9.8 a 22.8 %) y el resto tuvo HbF baja (< 1 %). El rango de HbS fue de 73.5 a 97.8 % y el de HbA de 2 a 6.9 %; 79.2% de los pacientes manifestó la enfermedad entre el sexto y duodécimo mes de vida; la crisis hemolítica fue el cuadro clínico más frecuente; 41 % de los pacientes presentó peso de -2 desviaciones estándar, y 45 % talla de -2 desviaciones estándar para la edad. A dos pacientes se les realizó esplenectomía antes de cumplir un año de vida (por secuestro esplénico); uno tuvo necrosis ósea por isquemia en cabeza de fémur; dos, un evento de síndrome torácico agudo durante el último año; dos,

crisis convulsivas. Estas características sólo se observaron en pacientes con ACF y HbF baja; si bien no hubo diferencias significativas en el número de transfusiones por año entre los dos grupos, los pacientes con HbF elevada requirieron menor número de éstas. En el cuadro I se muestran las características clínicas y hematológicas que presentaron diferencias significativas entre ambos grupos de pacientes.

Eugenio Dolores  
Ruiz Cruz et al.  
Anemia  
de células falciformes  
y hemoglobina fetal

**Cuadro I**  
**Características clínicas y hematológicas de dos grupos de pacientes con anemia de células falciformes (ACF)**

	Pacientes con ACF y HbF alta	Pacientes con ACF y HbF baja	p *
Hemoglobina total g/dL			
> 7	5	6	0.01
7	0	13	
Hematocrito (%)			
35	4	5	0.047
< 35	1	14	
Volumen corpuscular medio (fl)			
80	4	5	0.047
< 80	1	14	
Leucocitos x 10 <sup>-9</sup> L			
10	5	4	0.005
> 10	0	15	
Crisis dolorosas por año			
< 2	5	5	0.002
2	0	14	
Infecciones por año			
< 3	5	6	0.01
3	0	13	

HbF = hemoglobina fetal

\* Prueba exacta de Fisher

## Discusión

Se ha informado que la ACF se asocia con elevada morbilidad y mortalidad a temprana edad,<sup>7,8</sup> por las complicaciones vasculares que inducen daño orgánico múltiple y crónico.<sup>15,16</sup> Los niveles moderados de HbF en estos pacientes se han asociado a curso clínico menos grave.<sup>8,17</sup> El cuadro clínico de los pacientes estudiados con ACF y HbF elevada estuvo de acuerdo con lo señalado en la literatura médica especializada, caracterizándose principalmente por menor número

de crisis dolorosas e infecciones por año, menor grado de anemia y cuantificación normal de leucocitos; todos presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) respecto a los que tuvieron HbF baja. Estos últimos tuvieron mayor número de transfusiones por año y complicaciones como crisis convulsivas, necrosis ósea, síndrome torácico agudo y secuestro esplénico antes del año de edad; estas características clínicas definen la gravedad del padecimiento. Como se observó, las características clínicas y de laboratorio están relacionadas con los niveles sanguíneos de la HbF, debido a que es un potente inhibidor de la polimerización de la desoxihemoglobina S.<sup>9</sup> La anterior observación ha permitido desarrollar estrategias terapéuticas para preservar o reactivar la producción de HbF después del nacimiento<sup>18,19</sup> utilizando fármacos como la hidroxiurea, la 2-desoxi-5-azacitidina y ácidos grasos de cadena corta.<sup>20-23</sup> El primero ha sido aprobado por la FDA (*Food and Drugs Administration*) en Estados Unidos de América del Norte para controlar el padecimiento y tiene una amplia aceptación internacional.<sup>20-21</sup>

Algunos individuos con ACF muestran una predisposición para persistencia hereditaria de HbF, sin embargo, esta condición es poco frecuente, encontrándose en 1:188 mil sujetos con ACF en población multiétnica.<sup>11</sup> En el presente estudio, 20.3 % de los pacientes (5/19 originarios del estado de Guerrero, no asociado) presentaron niveles elevados de HbF. Este hallazgo es importante y puede estar relacionado a polimorfismos que afectan la expresión de los genes  $\gamma$ -globinicos o del *locus* controlador de la producción de células F.<sup>24,25</sup> Sería necesario realizar estudios moleculares futuros para identificar dichos factores.

## Conclusiones

La anemia de células falciformes es frecuente en las costas de México y representa un problema de salud pública en todo el orbe. El nivel elevado de HbF en pacientes con ACF es un factor benéfico que incrementa la concentración de hemoglobina y mejora el cuadro clínico, disminuyendo la frecuencia y duración de las crisis dolorosas y el número de infecciones y, por lo tanto, el número de hospitalizaciones.

Todos estos factores mejoran la calidad de vida de los pacientes; la opción terapéutica es el uso de fármacos como hidroxiurea, 2-desoxi-5-azacitidina y otros que inducen la producción de HbF en los pacientes.

## Agradecimientos

El presente estudio fue realizado gracias al apoyo del CONACYT (0694P y 137880) y de la Coordinación de Investigación Médica del IMSS (FP-0038/1300).

## Referencias

1. Pauling L, Itano HA, Singer SJ, Wells IC. Sickle cell anemia, a molecular disease. *Science* 1949;110:543.
2. Ingram VM. Gene mutation in human hemoglobin: the chemical difference between normal and sickle cell hemoglobin. *Nature* 1957;180:326-329.
3. Peñaloza R, Lisker R. Marcadores genéticos. Importancia antropológica y biomédica. En: Guízar-Vázquez JJ, editor. Genética clínica. México: El Manual Moderno; 2001. p. 853-868.
4. Asakura T, Mayberry J. Relationship between the morphology of sickle cell and the method of deoxygenation. *J Lab Clin Med* 1984;104:987.
5. Schmalzer EA, Lee JO, Brown AK, Usami S, Chien S. Viscosity of mixtures of sickle and normal red cells at varying hematocrit levels: implications for transfusion. *Transfusion* 1987;27:228-233.
6. Fabry ME, Kaul DK. Sickle cell vaso-occlusion. *Hematol Oncol Clin North Am* 1991;5:375-398.
7. Platt OS, Brambilla DJ, Rosse WF, Milner PF, Castro O, Steinberg MH, et al. Mortality in sickle cell disease: life expectancy and risk factor for early death. *N Engl J Med* 1994;330:1639-1644.
8. Thomas PW, Higga DR, Serjeant GR. Benign clinical course in homozygous sickle cell disease: a search for predictors. *J Clin Epidemiol* 1997;50: 121-126.
9. Poillon WN, Kim BC, Castro O. Intracellular hemoglobin S polymerization and the clinical severity of sickle cell anemia. *Blood* 1998;91:1777-1783.
10. Boyer SH, Belding TK, Margolet L, Noyes AN. Fetal hemoglobin restriction to a few erythrocytes (F cell) in normal human adults. *Science* 1975;188: 361-363.
11. Lorey FW, Arnopp J, Cunningham GC. Distribution of hemoglobinopathy variants by ethnicity in a multiethnic state. *Genetic Epidemiol* 1996;13: 501-512.
12. Chang YP, Maier RM, Smith KD, Conyu L, Ducrocq R, Montlambert M, et al. The relative importance of the X-linked FCP locus and beta

- globin haplotypes in determining haemoglobin F levels: a study of SS patients homozygous for  $\beta^S$  haplotypes. Br J Haematol 1997;96:806-814.
13. Powar D, Hiti A. Sickle cell anemia: Beta S gene cluster haplotypes as genetic markers for severe disease expression. Am J Dis Child 1993;147:1197-1202.
  14. Peñaloza R, García CA, Ceras T, Álvarez C, Berumen J, Zavala C, et al. Frequency of haplotypes in the beta globin gene cluster in a selected sample of the Mexican population. Am J Hum Biol 1995; 7:45-49.
  15. Powars D, Weideman JA, Odom-Maryon T, Niland JC, Johnson C. Sickle cell chronic lung disease: prior morbidity and the risk of pulmonary failure. Medicine 1988;67:66-76.
  16. Powars DR. Sickle cell anemia:  $\beta^S$ -gene-cluster haplotypes as prognostic indicators of vital organ failure. Semin Hematol 1991;28:202-208.
  17. Charache S. Fetal hemoglobin, sickling and sickle cell disease. Adv Pediatr 1990;37:1-13.
  18. Noguchi CT, Rodgers GP, Serjeant G, Schechter AN. Levels of fetal hemoglobin necessary for treatment of sickle-cell disease. N Engl J Med 1988;318:96-99.
  19. Powars DR, Weirs JN, Chan LS, Schroeder WA. Is there a threshold level of fetal hemoglobin that ameliorates morbidity in sickle-cell anemia? Blood 1984;63:921-926.
  20. Charache S, Barton FB, Moore RD, Terrin ML, Steinberg MH, Dover GJ, et al. Hydroxyurea and sickle cell anemia. Clinical utility of a myelo-suppressive switching agent. Medicine (Baltimore) 1996;75:300-326.
  21. Castro O. Management of sickle cell disease recent advances and controversies. Br J Haematol 1999;107:2-11.
  22. Koshy M, Dorn L, Bressier L, Molokie R, Lavalle D, Talischy N, et al. 2-deoxy-5-azacytidine and fetal hemoglobin induction in sickle cell anemia. Blood 2000;96:2379-2384.
  23. Ikuta T, Kan YW, Swerdlow PS, Faller DV, Perrine SP. Alterations in protein-DNA interactions in the gamma-globin gene promoter in response to butyrate therapy. Blood 1998;92:2924-2933.
  24. Dover GJ, Smith KD, Chang YC, Purvis S, Mays A, Meyers DA, et al. Fetal hemoglobin levels in sickle cell disease and normal individuals are partially controlled by an X-linked gene located at Xp22.2. Blood 1992;80:816-824.
  25. Pissard S, Beuzard Y. A potential regulatory region for the expression of fetal hemoglobin in sickle cell disease. Blood 1994;84:331-338.  