

Hemoglobinopatías estructurales

J. L. Vives Corrons

ÍNDICE

Introducción
Hemoglobinopatías estructurales
Nomenclatura
Prevalencia y distribución geográfica
Mecanismo molecular
<i>Mutaciones puntuales</i>
<i>Inserciones o delecciones</i>
<i>Mutaciones del codón de terminación</i>
<i>Hibridación anómala entre dos cadenas de globina</i>
Clasificación de las hemoglobinopatías
<i>Hemoglobinopatías con alteración de carga superficial</i>
<i>Hemoglobinopatías inestables</i>
<i>Hemoglobinopatías con afinidad alterada por el oxígeno</i>
<i>Metahemoglobinemias</i>
<i>Hemoglobinopatías talasémicas</i>
<i>Hemoglobinopatías con alteración de carga superficial</i>
<i>Hemoglobina S (HbS)</i>
<i>Incidencia y distribución geográfica</i>
<i>Fisiopatología</i>
<i>Manifestaciones clínicas</i>
<i>Diagnóstico de la anemia falciforme</i>
<i>Electroforesis de hemoglobinas</i>
<i>Pronóstico y prevención</i>
<i>Tratamiento</i>
<i>Hemoglobina C (HbC)</i>
Otras hemoglobinopatías con alteración de carga superficial
<i>Hemoglobinopatías inestables</i>
<i>Mecanismo molecular y fisiopatología</i>
<i>Manifestaciones clínicas</i>
<i>Diagnóstico</i>
<i>Tratamiento</i>
<i>Hemoglobinopatías con alteración de la afinidad por el oxígeno</i>
<i>Mecanismo molecular y fisiopatología</i>
<i>Manifestaciones clínicas</i>
<i>Diagnóstico</i>
<i>Tratamiento</i>
<i>Hemoglobinopatías M</i>
<i>Diagnóstico</i>
<i>Tratamiento</i>
Prevención y diagnóstico prenatal de las hemoglobinopatías y talasemias
Bibliografía

INTRODUCCIÓN

Las hemoglobinopatías son defectos de la hemoglobina que, en su gran mayoría, se transmiten con la herencia (hemoglobinopatías congénitas). Existe también un grupo reducido de hemoglobinopatías que pueden aparecer en el curso de ciertas enfermedades (hemoglobinopatías adquiridas). Las hemoglobinopatías congénitas obedecen a mutaciones en los genes que codifican la síntesis de cadenas de globina, y su consecuencia puede ser:

1. Síntesis de una hemoglobina anómala, estructuralmente diferente a la hemoglobina normal (hemoglobinopatías estructurales).
2. Disminución de la síntesis de hemoglobina normal (talasemias).
3. Ambos defectos simultáneamente (hemoglobinopatías talasémicas).
4. Persistencia hereditaria de hemoglobina fetal (PHHF).

La PHHF obedece a defectos en la interconversión de HbF a HbA durante el desarrollo, y se caracteriza por la síntesis de HbF durante la vida adulta. Aunque carece de expresividad clínica, la PHHF constituye un modelo muy útil para el estudio de la regulación de los cambios genéticos que acompañan al desarrollo¹.

En las hemoglobinopatías estructurales, las mutaciones del gen β son más frecuentes que las del gen α , y ambos genes son alelos entre sí, por lo que pueden compartir dos mutaciones diferentes (doble heterocigoto) o idénticas (homocigoto). Cuando sólo uno de los alelos presenta la mutación, se trata de un estado heterocigoto. La transmisión hereditaria de las hemoglobinopatías es, en general, autosómica codominante, lo que significa que un individuo heterocigoto expresa tanto la hemoglobina normal como la mutada. Dado que el ser humano posee dos genes β y cuatro α , si la mutación afecta al gen β se observa el 50%, aproximadamente, de cada una de las fracciones (normal y patológica), mientras que si se halla

afectado un solo gen α existirá sólo el 25% de hemoglobina patológica. Desde el punto de vista clínico, las hemoglobinopatías sólo se expresan en estado homocigoto o doble heterocigoto y, por lo general, el estado heterocigoto es asintomático. La excepción que confirma esta regla son las hemoglobinopatías inestables, en las que la expresividad clínica del defecto aparece ya en estado heterocigoto. Por tanto, a excepción de estas últimas, la expresividad clínica de las hemoglobinopatías sigue un patrón autosómico recesivo. Finalmente, las combinaciones entre genes no alélicos (α y β , por ejemplo) puede producir diferentes formas de expresividad clínica que difieren entre sí por la intensidad de la anemia hemolítica o el patrón electroforético de hemoglobinas^{1,2}. Las diferentes mutaciones de las hemoglobinopatías descritas hasta la actualidad pueden consultarse en la web: <http://globin.cse.psu.edu/globin/hbvar/menu.html>.

HEMOGLOBINOPATÍAS ESTRUCTURALES

Una hemoglobinopatía estructural obedece a una alteración en la secuencia de los aminoácidos de una de sus cadenas globínicas (estructura primaria), cuya consecuencia puede ser una alteración de las propiedades moleculares (físicas o químicas). Aunque el sufijo «patía» hace pensar en que todas estas hemoglobinopatías se traducen en un padecimiento para el enfermo, es decir, en enfermedad, esto no es así, ya que en su gran mayoría son asintomáticas, es decir, que el cambio estructural carece de repercusión clínica. La detección de algunas de estas hemoglobinopatías ha sido posible gracias a un cambio en su carga eléctrica superficial, que hace posible identificarlas mediante electroforesis (fig. 9.1). De las que presentan expresividad clínica, aunque ésta puede ser variable, el denominador común es la anemia hemolítica. Hoy día se sabe que, aproximadamente, el 7% de la población mundial (alrededor de 400 millones de personas) se halla afectada de una hemoglobinopatía, y que cada año nacen unos 500.000 niños portadores heterocigotos de hemoglobinopatías. Asimismo, se conocen alrededor de 1.000 hemoglobi-

nopatías diferentes que, en realidad, representan sólo entre el 10-15% de las teóricamente posibles. De ellas, sólo cuatro, debido a su especial frecuencia e importancia clínica, ocupan un lugar destacado: HbS, HbC, HbE y HbD Punjab. Cabe destacar que, al igual que otras enfermedades hereditarias del eritrocito, algunas de estas hemoglobinopatías ejercen, en estado heterocigoto, un efecto protector contra la infección por el parásito del paludismo (malaria). Ello ha realzado aún más la importancia del estudio de las hemoglobinopatías como enfermedades hereditarias monogénicas de interés clínico.

La hemoglobinopatía estructural de mayor importancia clínica es, sin duda, la HbS, ya que supone un grave problema de salud pública en muchos países del mundo. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), este problema puede agravarse aún más si no se aplican medidas preventivas mediante consejo genético.

El mecanismo genético de las hemoglobinopatías estructurales puede ser de cuatro tipos: a) sustitución de un aminoácido por otro, como sucede con la HbS o HbC y la gran mayoría de las hemoglobinas anormales; b) delección de un fragmento de la secuencia de aminoácidos (Hb Gun Hill); c) alargamiento de una cadena de globina (Hb Constant Spring), y d) hibridación anómala entre dos cadenas de globina (Hb Lepore). Las mutaciones pueden afectar a cualquiera de las cadenas de globina: cadena alfa (p. ej., HbG_{Philadelphia}), cadena beta (HbS, HbC), cadena gamma (HbF_{Texas}), o cadena delta (HbA₂_{Flatbush}).

Nomenclatura

Desde que, en 1910, Herrick describiera por vez primera la anemia falciforme en un estudiante de raza negra³, y años más tarde, Pauling identificara la hemoglobinopatía S como causa de la misma⁴, el progreso en el conocimiento de las hemoglobinopatías no ha cesado de aumentar. Su nomenclatura, basada inicialmente en las letras del abecedario (A, B, C, etc.) ha sido sobrepasada por el enorme número de nuevas hemoglobinopatías, y ha tenido que ser sustituida por otros sistemas diversos, difíciles de sistematizar. Finalmente, junto con la nomenclatura común se ha

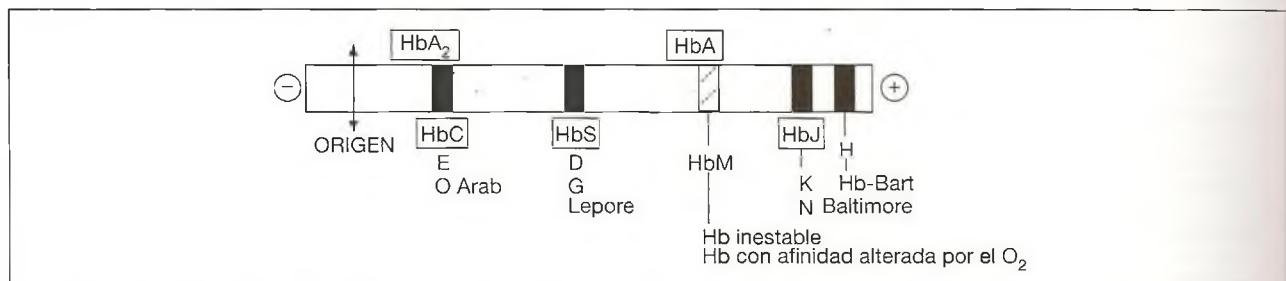


Figura 9.1. Electroforesis de hemoglobinas en acetato de celulosa (pH: 8,9). Desde el origen, las hemoglobinas se desplazan hacia el caño (polo positivo) y de acuerdo con su posición respecto a la HbA normal se clasifican en variantes lentas, rápidas o de migración normal. Se representan aquí algunas de las hemoglobinopatías más interesantes desde el punto de vista clínico:

Variantes lentas. Migran por detrás de la HbA pero por delante de la HbA₂: HbS, HbD, HbG y Hb Lepore y en la misma posición que la HbC, HbE y HbO Arab.

Variantes rápidas. Migran inmediatamente por delante de la HbA: HbJ, HbK y HbN y algo más lejos: HbH, Hb Bart y Hb Baltimore.

Variantes de migración normal. Migran igual que la HbA: HbM, Hb inestables y Hb con afinidad alterada por el oxígeno.

La HbF es una variante normal que migra inmediatamente por detrás de la HbA, pero en el adulto no se detecta electroforéticamente debido a su escasa concentración.

propuesto una nomenclatura científica basada en que cada variante se designa por la cadena de globina mutada, el número secuencial del AA mutado (con su correspondiente segmento helicoidal) y la naturaleza de la mutación. Por ejemplo, para el caso de la hemoglobinopatía S, la denominación común (HbS) va acompañada de la nomenclatura científica: $\beta 6(A3)Glu \rightarrow Val$, con lo que la denominación final es: HbS $\beta 6(A3)Glu Val$. La HbC Harlem, que tiene dos mutaciones, se designa: $\beta 6(A3)Glu \rightarrow Val; 73(E17)Asp \rightarrow Asn$. Las delecciones se expresan indicando el intervalo de AA perdidos por la sigla «0» en lugar del AA mutado: HbTochigi $\beta 56-59(D7-E3)$ o HbFreiburg $\beta 23(B5) Val \rightarrow 0$. Las variantes con cadenas fusionadas, como la Hb Lepore, por ejemplo, siguen una nomenclatura similar a la de las delecciones: $\delta(1-87) \beta(116-146)$. Finalmente, en las variantes con elongación de la cadena globínica como, por ejemplo, la Hb Tak se emplea el signo «+» seguido del número de AA adicionados: $\beta + 11C$.

El International Hemoglobin Information Center de Augusta, Georgia, EE.UU. publica regularmente en la revista *Hemoglobin* un catálogo actualizado de todas las hemoglobinopatías estructurales descritas⁵ (<http://e20.manu.edu.mk/rcgeb/ihic>).

Prevalencia y distribución geográfica

La prevalencia global de las principales hemoglobinopatías más frecuentes en la población mundial es de aproximadamente el 0,2%. Esta cifra tiende a aumentar gracias al progreso de la lucha contra la pobreza, la desnutrición, las enfermedades infecciosas y la mortalidad infantil, lo que puede significar un empeoramiento de la

situación generada por estas enfermedades hereditarias en los países del tercer mundo o en vías de desarrollo. En determinadas razas o áreas geográficas, la prevalencia de las hemoglobinopatías guarda relación con la incidencia del paludismo endémico (*P. falciparum*). Tal sucede, especialmente, con las hemoglobinopatías más frecuentes y de mayor interés clínico: HbS, HbC, HbE y HbD Punjab. Aunque todas ellas son especialmente frecuentes en la raza negra, en especial la HbS y HbC, la HbE es común en el sudeste asiático, y la HbD Punjab lo es en India y Extremo Oriente (fig. 9.2). La HbS y HbC pueden afectar también a la raza blanca, y su incidencia es variable en diferentes regiones del área mediterránea como, por ejemplo, Grecia, Chipre, sur de Italia, Sicilia, España y Portugal. En España, las áreas con especial incidencia de ambas hemoglobinopatías son Andalucía y Extremadura⁶.

Mecanismo molecular

Las hemoglobinopatías estructurales pueden obedecer a cuatro tipos de mutaciones:

Mutaciones puntuales

Se conocen también como sustitución simple porque afectan a un único nucleótido de los tres que forman un codón. La consecuencia es un cambio de una base nitrogenada por otra diferente con alteración de un codón que, la mayoría de las veces, se traduce en la simple sustitución de un aminoácido por otro en la estructura de la hemoglobina. Las mutaciones puntuales pueden ser homólogas (cambio purina-purina o pirimi-

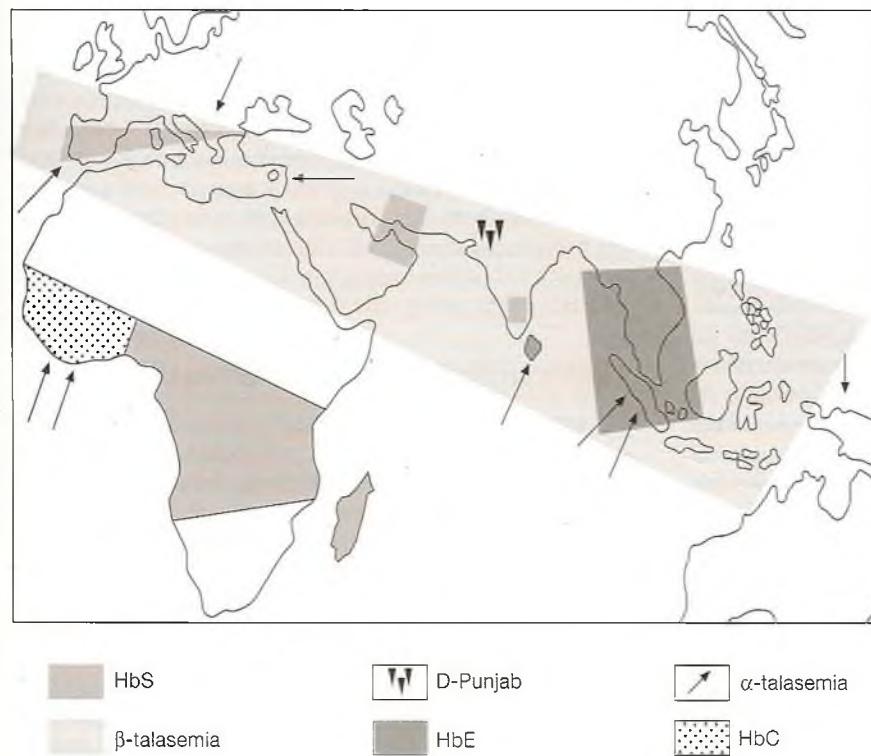


Figura 9.2. Distribución geográfica de las hemoglobinopatías y talasemias más frecuentes.

dina-pirimidina) o heterólogas (cambio purina-pirimidina o pirimidina-purina). Las segundas tienen, en general, una mayor repercusión clínica que las primeras. La mutación homóloga del DNA más frecuente es el cambio adenina-guanina ($A \rightarrow G$). Un mismo triplete de bases nitrogenadas puede sufrir diferentes tipos de mutación puntual, lo que da lugar a diferentes tipos de hemoglobinas mutadas (fig. 9.3).

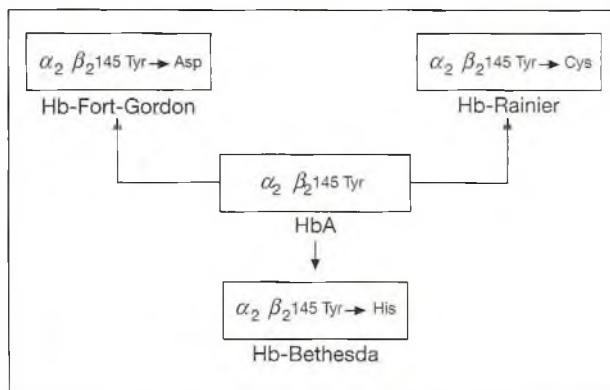


Figura 9.3. Ejemplo de cómo una mutación en un mismo triplete puede dar lugar a tres hemoglobinopatías diferentes.

La gran mayoría de hemoglobinopatías estructurales descritas obedecen a mutaciones de este tipo como, por ejemplo, la HbS (sustitución Glu-Val en posición 6 de la cadena beta) y la HbC (sustitución Glu-Lys en posición 6 de la cadena beta). Algunas hemoglobinopatías poseen dos mutaciones diferentes en la misma cadena de globina, como, por ejemplo, la HbC Harlem (β 6 Glu → Val 73 Asp Ans), HbArlington Park (β 6Glu → Lys; 95 Lys → Glu), HbJ Singapore (78 Ans → Asp; 79Ala → Gly), HbC Ziguinchor (β 6 Glu → Val 73; 58Pro → Arg) y HbS Travis (β 6 Glu → Val; 142Val → Ala), entre otras.

Inserciones o delecciones

Consisten en una pérdida o adición de uno o varios nucleótidos en la secuencia del DNA que codifica la síntesis de una cadena de globina. Son ejemplos de delecciones β las hemoglobinas Hb Freiburg (delección de un aminoácido), Hb Lyon (delección de dos aminoácidos) y Hb Gun Hill (delección de cinco aminoácidos). Un ejemplo de adición con duplicación de aminoácidos es la Hb Garay. La consecuencia de este tipo de mutaciones puede ser diversa: a) síntesis de cadenas de globina con un número de aminoácidos inferior al normal (cadenas reducidas); b) desviación del patrón de lectura (*frameshift mutation*) con síntesis de cadenas de globina cuyos aminoácidos son diferentes a los de la cadena normal (mutación sin sentido), o c) anulación del proceso de transcripción, con ausencia de síntesis (síndrome talasémico).

La síntesis de cadenas de globina reducidas o acortadas suele acompañarse de una mayor inestabilidad molecular de la hemoglobina (hemoglobina inestable), con formación de «cuerpos de Heinz» espontáneos. Ejemplo de ello son las hemoglobinopatías Hb Leiden, Hb Niterol y Hb Gun Hill, entre otras.

La desviación del patrón de lectura puede dar lugar a cadenas de globina totalmente diferentes a las normales y, por tanto, no funcionales (síndrome talasémico), pero si se localiza al final de la lectura, la globina resultante puede ser viable, aunque en general presenta una modificación estructural o la adición de aminoácidos. Ejemplos de este tipo de mutaciones son la Hb Wayne, Hb Cranston y la Hb Tak. Otras veces, pese a la importancia de la mutación (presencia de fragmentos de cadena anormal intercalados con fragmentos normales), la hemoglobinopatía resultante puede ser asintomática. Ejemplo de ello es la Hb Wayne, que posee cadenas alfa anormalmente largas y una secuencia de aminoácidos normal hasta la posición 138. Luego aparece una secuencia totalmente nueva de ocho aminoácidos^{1,2}.

Mutaciones del codón de terminación

Se producen cuando la mutación provoca la alteración (o desaparición) de un codón de terminación (que señala el final de la síntesis de una cadena de globina). Estas mutaciones producen terminaciones tardías de la transcripción del RNAm con síntesis de cadenas de globina que poseen más aminoácidos que las correspondientes cadenas normales (alargamiento de la cadena de globina). Ejemplo de estas hemoglobinopatías son la Hb Constant Spring (CS), que presenta de 28 a 31 aminoácidos de más en la cadena alfa (alfa 141) + (28a31).

Hibridación anómala entre dos cadenas de globina

Obedecen a un entrecruzamiento desigual entre parte del gen delta de un cromosoma y parte del gen beta del cromosoma homólogo durante el proceso de la meiosis (*crossing-over*). La consecuencia es la formación de cadenas de globina híbridas por fusión de dos subunidades de globina. Un ejemplo de este tipo de hemoglobinopatías es la Hb Lepore debida a fusión delta-beta. En la Hb Lepore la porción N-terminal de la cadena delta (50 a 80 aminoácidos) se ha fusionado con la porción C-terminal de la cadena beta (60 a 90 aminoácidos), formándose una cadena híbrida con igual número de aminoácidos (146) que una cadena beta normal. Los individuos portadores de Hb Lepore poseen un cromosoma Lepore sin genes beta o delta, y con un único gen de fusión delta-beta (gen Lepore). Los individuos portadores heterocigotos se comportan como un rasgo talasémico (beta talasemia menor), y los homocigotos, como una talasemia intermedia o mayor moderada.

Clasificación de las hemoglobinopatías

La repercusión de una mutación estructural sobre las propiedades fisicoquímicas y funcionales de la Hb depende del tipo de aminoácido mutado y de su localización en la cadena globínica. Según ello, las hemoglobinopatías estructurales pueden clasificarse en cinco grandes grupos, según el efecto de la mutación:

Hemoglobinopatías con alteración de carga superficial

Estas mutaciones se hallan próximas a la superficie de la molécula de hemoglobina (mutaciones superficiales) y, la mayoría de las veces, van acompañadas de una alteración de su carga eléctrica. Debido a ello, estas hemo-

globinopatías pueden identificarse fácilmente mediante electroforesis. Algunas de ellas producen también un descenso de la solubilidad de la hemoglobina, con formación de estructuras intraeritrocitarias de características paracristalinas. Su manifestación clínica más característica es la anemia hemolítica, y un ejemplo de este tipo de hemoglobinopatías son la HbS y HbC. En la gran mayoría de los casos, este tipo de mutaciones, si bien pueden modificar la carga eléctrica superficial, no provocan ninguna repercusión clínica (asintomáticas), y su hallazgo suele realizarse de forma casual o con motivo de la realización de estudios genéticos. Ejemplo de variantes hemoglobínicas asintomáticas son la HbG Filadelfia o la HbJ París.

Hemoglobinopatías inestables

En general, obedecen a mutaciones internas que desestabilizan la molécula de hemoglobina facilitando su desnaturalización *in vivo* y la formación de precipitados intraeritrocitarios o cuerpos de Heinz. Se conocen con el nombre de hemoglobinas inestables, y su manifestación clínica es una anemia hemolítica crónica, con crisis de agudización después de la ingesta de medicamentos u otras sustancias oxidantes. Hasta la actualidad, se han descrito unas 150 formas moleculares diferentes de hemoglobinopatías inestables.

Hemoglobinopatías con afinidad alterada por el oxígeno

Afectan a regiones de la molécula relacionadas con los cambios conformacionales que acompañan al proceso de fijación reversible del oxígeno molecular. Pueden ser de dos tipos: hemoglobinopatías con aumento de la afinidad por el oxígeno, que dificultan la liberación del oxígeno hacia las células y, por tanto, la oxigenación celular, o hemoglobinopatías con disminución de la afinidad por el oxígeno, que fijan poco oxígeno, pero lo liberan muy rápidamente hacia las células. En el primer caso, existe siempre una respuesta del organismo a la hipoxia de los tejidos, con aumento de la eritropoyesis y de los eritrocitos circulantes (eritrocitosis). Algunos ejemplos de este tipo de hemoglobinopatías son la Hb Cubujuquí, Hb Suresnes o Hb Kansas. En el segundo, sucede el fenómeno inverso, y puede observarse un moderado descenso relativo de la concentración de hemoglobina (anemia). Su frecuencia es muy inferior al primer tipo.

Metahemoglobinemias

En este tipo de hemoglobinopatías, la mutación estabiliza de forma permanente el hierro de los grupos hemo implicados en estado oxidado, impidiendo la fijación reversible del oxígeno molecular. Aunque la hemoglobina mutada (hemoglobinopatía M) sólo tiene inutilizados la mitad de sus grupos hemo para el transporte de oxígeno, carece de función, y su presencia en la sangre va acompañada de metahemoglobinemia y cianosis.

Hemoglobinopatías talasémicas

En este caso, la mutación responsable del cambio estructural produce también una disminución de la síntesis de la cadena de globina por lo que junto a la posible alteración debida a la mutación estructural coexiste un

síndrome talasémico que a veces constituye la manifestación clínica principal. Un ejemplo característico de este tipo de hemoglobinopatía es la HbE (tabla 9.1).

HEMOGLOBINOPATÍAS CON ALTERACIÓN DE CARGA SUPERFICIAL

Constituyen las hemoglobinopatías estructurales más frecuentes y las que más fácilmente pueden detectarse en la práctica clínica, ya que para ello sólo se requiere la realización de una electroforesis en diferentes sopores y valores de pH. Mediante esta técnica, estas hemoglobinopatías se diferencian fácilmente de la HbA (normal) por su diferente movilidad (fig. 9.1).

Entre las hemoglobinopatías con alteración de carga superficial destacan como de mayor interés clínico la HbS y HbC. Ambas hemoglobinopatías muestran un posicionamiento característico cuando se emplea soporte de acetato de celulosa y pH alcalino (8,6), y se utilizan para diferenciar otras hemoglobinopatías de este grupo que presentan una movilidad idéntica a la de la HbS (de la que se diferencian por su solubilidad normal) como, por ejemplo, la HbD (HbD Los Angeles, HbD Punjab) y HbG, o algo más rápida (pero menor a la de la HbA normal) como la HbE (hemoglobinopatía talasémica), HbC Harlem, HbO Arab, la Hbl y Hb Porto Alegre, entre otras. Empleando este mismo soporte y valor de pH, la HbC, HbE y HbO Arab migran a nivel de la fracción HbA₂ normal, por lo que para diferenciarlas debe emplearse un soporte diferente (citrato de agar) y valor de pH (6,5) u otras técnicas de electroforesis (isoelectroenfoque) o cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). Actualmente, existen en el mercado diversos sistemas que facilitan la identificación cualitativa y cuantitativa de diferentes variantes hemoglobínicas en una única fase, de manera simple y rápida (BioRad Variant). Procedimientos más selectivos, aunque también útiles para la identificación inmediata de determinados tipos de hemoglobinopatías estructurales son el inmunoensayo y la biología molecular. Mediante inmunoensayo (kits de HemoCard, Isolab Inc.) pueden identificarse las hemoglobinas HbS, HbC, HbE y HbA, y mediante biología molecular, la HbS, HbD Punjab y HbO Arab.

Hemoglobinopatía S (HbS)

La hemoglobinopatía S (HbS) es la primera enfermedad molecular que fue descrita por Pauling en 1949. Se halla muy extendida por todo el mundo, especialmente entre individuos oriundos de África ecuatorial, aunque se observa también con elevada frecuencia en poblaciones del área mediterránea, Oriente Medio, India y EE.UU. (raza negra). En su forma homocigota (HbSS), es causante de la drepanocitosis o anemia falciforme, y junto con la HbC constituye la hemoglobinopatía más frecuente y también la de mayor impacto sanitario.⁷

Incidencia y distribución geográfica

La hemoglobina S debe su denominación al término anglosajón *sickle* que significa «hoz», y que es la forma característica que adoptan los eritrocitos cuando dismi-

TABLA 9.1

Clasificación de las hemoglobinopatías estructurales

Alteración funcional	Lugar de la sustitución	Expresividad clínica	Ejemplo
Ninguna	Superficie	Ninguna	HbG Philadelphia
Alteración de solubilidad	Superficie	Hemólisis (homocigotos)	HbJ París HbS HbC HbO Arab HbD Punjab HbI
Inestabilidad molecular (hemoglobinas inestables)	Interior (residuos apolares)	Hemólisis (heterocigotos)	Hb Kohn Hb Zurich Hb Fannin-Lubbock
Alteración de la afinidad por el O ₂ (hemoglobinas funcionales)			
– Aumentada	Contacto α ₁ β ₂ (β C-Terminal)	Eritrocitosis	Hb Chesapeake
– Disminuida	Contacto α ₁ β ₂ (cavidad hemo)	Cianosis	Hb Barcelona Hb Kansas Hb Seattle Hb Hammersmith
Metahemoglobinemia (hemoglobinas M)	Histidina Proximal (F8)	Cianosis	HbM Boston HbM Iwate
Fenotipo α-Talasemia	Distal (E7) Variable	Hemólisis (doble heterocigoto)	HbM Saskatoon* Hb Constant-Spring
Fenotipo β-Talasemia	Variable	Hemólisis (doble heterocigoto)	Hb Lepore

*Hemólisis crónica.

nuye la concentración de oxígeno ambiental. Debido a que los eritrocitos portadores de HbS son resistentes a la infección por *P. falciparum*, el agente causante del paludismo o malaria, la distribución geográfica de la hemoglobinopatía corre paralela a las áreas en las que existe o ha existido paludismo endémico (fig. 9.2). La mayor incidencia de HbS corresponde al África tropical, donde hasta el 45% de la población es portadora de la mutación. En América Latina y el Caribe, uno de cada 100 individuos de raza negra es portador del gen β^S, y en EE.UU. la incidencia de anemia falciforme es de, aproximadamente, 1 de cada 700 nacimientos. En otras áreas también relacionadas con el paludismo endémico, como, por ejemplo, Arabia Saudita, India y sudeste asiático, la incidencia de esta hemoglobinopatía también es muy elevada, pero presenta diferentes haplotipos lo que indica un diferente origen. En España, la incidencia de HbS está creciendo debido al impacto de la inmigración procedente del norte de África y de las regiones subsaharianas. Tal es así que estudios recientes basados en el cribado neonatal de hemoglobinopatías demuestran que uno de cada 400 recién nacidos de padres oriundos del África subsahariana son portadores homocigotos de HbS.

El análisis del DNA en individuos portadores del gen β^S ha demostrado la existencia de diferentes haplotipos, cuyo estudio en la población africana indica la presencia de ciertos haplotipos prevalentes, presentes también en la población negra de EE.UU. y Jamaica. Los haplotipos

del gen β^S son patrones polimórficos del DNA que flaquea el gen β, y que se reconocen mediante el uso de la PCR y de endonucleasas de restricción. Hasta la actualidad, se han descrito los siguientes haplotipos β^S: Benín (Ben), Bantú o Centroafricano (CAR), Senegal (Sen), Camerún (Cam), Arabia Saudita o Asiático, y haplotipos menores o infrecuentes. Estas denominaciones guardan relación directa con las regiones geográficas específicas en las cuales cada haplotipo es predominante. Los haplotipos Benín y Senegal son también prevalentes en la población del norte de África y litoral mediterráneo, en especial en Grecia, Italia y parte de la península Ibérica, lo que ha permitido esclarecer la naturaleza y características de las corrientes migratorias que han existido entre diferentes áreas geográficas de África y Europa. Junto con la importancia que puedan tener estos fragmentos polimórficos de DNA como marcadores genéticos, es de mayor interés clínico su posible correlación con la intensidad del síndrome drepanocítico. Así, mientras que en individuos homocigotos para la HbS (HbSS) la coexistencia del haplotipo Senegal o Asiático supone una mayor benignidad del cuadro clínico, la de los haplotipos CAR, Camerún o Benín, especialmente estos dos últimos, se asocia con formas más graves de drepanocitosis.

■ Fisiopatología

La HbS (β6(A3)Glu → Val) es el resultado de la sustitución de la base timina por la adenina en el codón 6 del

gen β de globina ($GAG \rightarrow TC$) con sustitución del glutámico (Glu) por la valina (Val). La localización superficial del aminoácido (residuo) mutado y su diferente carga eléctrica explica el que la HbS pueda distinguirse fácilmente de la HbA normal por su menor movilidad electroforética. Como consecuencia de esta mutación, cuando la hemoglobina se desoxigena (desoxi-Hb) sufre un proceso espontáneo de polimerización por el que adopta la estructura de un gel paracristalino, conocido como cuerpo tactoide^{9,10}. La estructura de este polímero se ha deducido a partir de los estudios realizados mediante difracción de rayos X y microscopía electrónica de transmisión. Cada polímero está formado por 14 tetrámeros de desoxi-Hb que se disponen formando haces longitudinales unidos entre sí (fig. 9.4). Esta alteración configura una estructura cilíndrica insoluble y rígida que modifica drásticamente la forma del eritrocito, el cual adopta una morfología que recuerda una hoz (*sickle*) (fig. 9.5). El proceso de polimerización (drepanocitosis) no es instantáneo sino que va precedido de un período de latencia durante el cual las moléculas de desoxi-HbS establecen contacto (formación de pequeños agregados o nucleación) para, finalmente, polimerizarse de forma «explosiva» en haces o fibras de cuerpos tactoides insolubles. Este proceso requiere un conjunto de factores facilitadores, entre los que destaca con mucho, el descenso de la presión parcial de oxígeno. Otros factores facilitadores de la drepanocitosis son la concentración de HbS (aumento de la CCMH), la disminución de temperatura, la fuerza iónica del medio (disminución del pH) y la interacción de la HbS con otras hemoglobinas normales (HbA, HbA₂ o HbF) o patológicas (HbC, HbD, HbO Arab, HbJ, principalmente). La interacción de la HbS con otras hemoglobinas explica

que la mezcla de cantidades proporcionales de HbS y HbA reduzca la intensidad de polimerización al 50%, o que ésta sea nula si en lugar de HbA existe HbF¹¹. Este efecto de la HbF sobre la polimerización es de gran interés, ya que explica la disminución de la expresividad clínica de la hemoglobinopatía S cuando coexiste con otras hemoglobinopatías, tales como β y $\delta\beta$ talasemias, o la persistencia hereditaria de hemoglobina fetal (PHHF). Además, permite investigar opciones terapéuticas basadas en la inducción de síntesis de HbF durante la edad adulta. Aunque el fenómeno de la falciformación es reversible, entre el 5 y el 50% de eritrocitos falciformes no pueden recuperar su forma original, por lo que son inmediatamente eliminados de la circulación por el sistema mononuclear fagocítico (SMF). La proporción entre drepanocitos reversibles (DR) y drepanocitos irreversibles (DI) varía de un paciente a otro, aunque, generalmente, siempre existe un predominio de DR que recuperan su forma normal (disco bicónvexo) en presencia de oxígeno. Los DI no recuperan la forma normal ni en presencia de oxígeno a elevada concentración, y se caracterizan por presentar un gran descenso del VCM (< 70 fL) y aumento de la CCMH (> 370 g/L). La alteración de la CCMH pone de manifiesto un grado extremo de deshidratación celular que se explica por las alteraciones que la polimerización irreversible de la desoxi-HbS ejerce sobre la membrana eritrocitaria. Una de ellas es la alteración de sus propiedades fisicoquímicas. Así, la formación de cuerpos tactoides intraeritrocitarios va acompañada de la formación de sustancias oxidantes (ion superóxido, peróxido de hidrógeno y radicales libres) que alteran la estructura de la membrana (modificación de la composición y distribución de fosfolípidos en la bicapa), y condicionan el aumento de la permea-

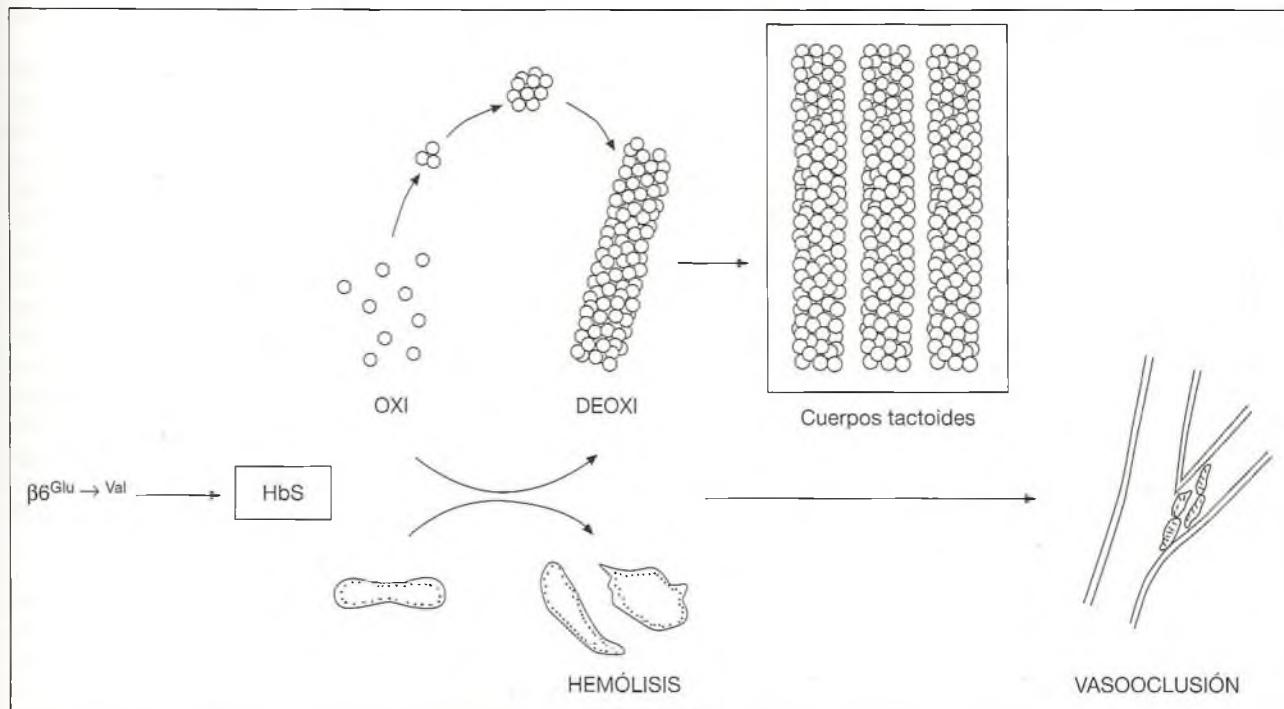


Figura 9.4. Formación de cuerpos tactoides en el proceso de polimerización de la HbS y fenómeno de vasooclusión.

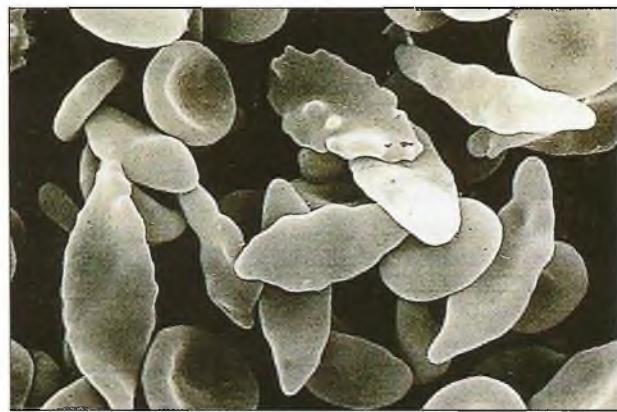


Figura 9.5. Aspecto morfológico de los eritrocitos falciformes (drepanocitos) en sangre. *Izquierda:* imagen de una extensión teñida mediante May-Grünwald-Giemsa, en la que se aprecian numerosos eritrocitos intensamente deformados por la polimerización de la HbS (drepanocitos irreversibles). *Derecha:* imagen de drepanocitos observados mediante microscopio electrónico de barrido (MEB).

bilidad pasiva al potasio y el exceso de calcio intraeritrocitario por el efecto Gardos. Otras alteraciones de la membrana del drepanocito son una elevada tendencia a adherirse al endotelio vascular, y una mayor sensibilidad al efecto de los fagocitos. Esta mayor adherencia de los drepanocitos al endotelio vascular resulta facilitado por sustancias como la trombospondina, resultado de la activación plaquetaria y la fibronectina. La trombospondina es un agente de adhesión especialmente activo, debido a su afinidad por el antígeno CD36 presente en la membrana de los reticulocitos, muy abundantes en la crisis de anemia falciforme. Igualmente sucede con la fibronectina, gracias también al mayor contenido de los reticulocitos en receptores $\alpha_4\beta_1$ (VLA 4). Esta mayor adhesión de los drepanocitos y reticulocitos al endotelio vascular constituye uno de los principales factores desencadenantes de las crisis vasooclusivas, características de la drepanocitosis. Ello, a su vez, puede venir facilitado por los granulocitos neutrófilos, también aumentados durante las crisis de falciformación, ya que interactúan con los eritrocitos falciformes y el endotelio vascular, y el estímulo de la actividad macrofágica que favorece la eliminación de los eritrocitos sensibilizados por el SMF^{12,13}.

La hemólisis de la anemia falciforme es, a la vez, intravascular y extravascular. El carácter intravascular resulta de la lisis de drepanocitos por acción del complemento (mayor sensibilidad al complemento) y la pérdida de deformabilidad por la falciformación (mayor fragilidad al cizallamiento de la circulación sanguínea). El carácter extravascular resulta de la mayor sensibilidad de los drepanocitos al efecto macrofágico de los monocitos.

Las crisis de vasooclusión tienen un origen multifactorial, y en su aparición pueden intervenir factores tan diferentes como la polimerización de la desoxi-HbS, la pérdida de deformabilidad y el aumento de viscosidad sanguínea, la mayor adherencia al endotelio vascular y la activación de la hemostasia, variaciones de la tonicidad vascular, efectos directos de los granulocitos o plaquetas, y también, la presencia de factores facilitadores del entorno ambiental. De todos ellos, no obstante, el que parece más importante es la mayor adherencia de los drepanocitos al endotelio vascular. En este proceso,

que puede ser desencadenado por un proceso infeccioso o inflamatorio con activación de los granulocitos y plaquetas, se aumenta la adhesión de los eritrocitos al endotelio vascular y, junto a la disminución de deformabilidad, se facilita la obstrucción y la aparición de crisis vasooclusiva. Cabe señalar que la vasooclusión constituye un factor local que amplifica, por efecto de la hipoxia, el proceso de falciformación y enlentecimiento de la circulación sanguínea local (fig. 9.4).

Manifestaciones clínicas

La hemoglobinopatía S se caracteriza por una elevada heterogeneidad clínica, observándose formas graves y otras prácticamente asintomáticas. Ello obedece a la existencia de moduladores de la expresión clínica, entre los que destacan la concentración de hemoglobina fetal (HbF), el sexo y la coexistencia de otras mutaciones, especialmente genes talasémicos¹⁴.

La forma clínica más frecuente o forma común de hemoglobinopatía S (HbS) es el rasgo falciforme (HbSA), generalmente asintomático, y del que se cree existen en el mundo más de 35 millones de personas afectadas. Los restantes fenotipos presentan una expresividad clínica variable, cuya intensidad depende de la combinación de la HbS consigo misma, bajo forma homocigota (HbSS) o con otras hemoglobinopatías y talasemias bajo forma «doble heterocigota» (síndromes drepanocíticos). Estos fenotipos se corresponden con diferentes genotipos en los que la mutación del gen β^S ($\alpha_2\beta_2$ 6 Glu-Val) se halla asociada a sí misma (HbSS), a otras hemoglobinopatías como la HbC (HbSC), HbE (HbSE), HbG (HbSG), a genes de β -tal (HbS/ β^0 -tal, HbS/ β -tal, HbS/ $\delta\beta$ -tal, y otras), α -tal (HbS/ α^0 -tal, HbS/ α^0 -tal, HbS/ α^+ -tal, HbS/ β^0 -tal, etc.), o de persistencia hereditaria de la HbF (HbS/PHbF).

Rasgo falciforme. El rasgo falciforme es el fenotipo de los portadores heterocigotos del gen β^S , y se caracteriza por la ausencia de signos clínicos de la enfermedad. La hemoglobinopatía sólo puede ponerse de manifiesto mediante procedimientos de laboratorio (electroforesis de hemoglobinas). Por ello, cuando en un individuo

portador de rasgo falciforme se aprecian signos clínicos de hemólisis, es prudente revisar de nuevo el diagnóstico, por si dicha manifestación pudiera corresponder a otra causa. El examen morfológico de los eritrocitos no muestra alteración alguna, y la concentración de reticulocitos en sangre, así como los índices eritrocitarios (VCM, HCM y CCMH), son normales. Excepcionalmente, la enfermedad puede manifestarse en situaciones de estrés, tales como disminuciones importantes de la presión parcial de oxígeno atmosférico (altitud, submarinismo o anestesia) o tras la realización de un ejercicio físico intenso. Esta última posibilidad podría explicar también la muerte súbita de deportistas o soldados después de una marcha extenuante. En cualquier caso, las manifestaciones clínicas del rasgo heterocigoto, cuando existen, se refieren más a alteraciones vasooclusivas que a la anemia hemolítica. Así, una de ellas es la afectación del riñón (hipostenuria con hematuria) por microinfarto de la médula renal, o el dolor abdominal agudo por microinfarto esplénico¹⁵.

Anemia falciforme o drepanocitosis. Es la expresividad clínica característica de la forma homocigota de HbS (HbSS). Generalmente, la anemia se asocia con un conjunto de manifestaciones extrahematológicas que confieren gravedad al defecto genético, y cuya intensidad varía ampliamente de un paciente a otro (síndromes drepanocíticos). Aunque durante el período neonatal, la anemia falciforme es poco manifiesta debido al efecto protector de la HbF no es hasta pasados los primeros 4 a 6 primeros meses de vida cuando se inicia el cuadro clínico¹⁶. En el desarrollo de la anemia falciforme pueden considerarse tres fases evolutivas con sintomatología característica: 1) fase estacionaria; 2) fase de expresividad aguda, y 3) fase de expresividad crónica.

1. **Fase estacionaria.** Corresponde, generalmente, a los primeros años de vida (1-4 años), y sus manifestaciones clínicas son las propias de un síndrome hemolítico crónico moderado o intenso (anemia, palidez cutáneo-mucosa, subictericia conjuntival, y retraso del crecimiento óseo y gonadal). En esta fase, es característica una interisca retención eritrocitaria esplénica (hipersplenismo) con complicaciones vasooclusivas de carácter local y progresivo que conducen a la pérdida de la función esplénica o autoesplenectomía. Ésta puede ponerse fácilmente de manifiesto mediante la visualización de vacuolas (*pits*) eritrocitarias cuando se observa una suspensión de sangre con glutaraldehído mediante microscopía convencional y óptica de Nomarski (fig. 9.6).

2. **Fase de expresividad aguda.** Se inicia a partir de los 4 años de edad, con agravamiento del cuadro anémico ($Hb < 80 \text{ g/L}$) y aparición de diversas manifestaciones clínicas de carácter agudo debidas a las crisis vasooclusivas que afectan de forma importante a diversos órganos, aunque muy especialmente al pulmón, al riñón y al tejido óseo (drepanocitosis).

Las *crisis vasooclusivas* constituyen, de hecho, la manifestación clínica más característica y grave de la anemia falciforme y, muchas veces, el primer síntoma^{16,17}. Se trata de ataques, muy dolorosos y pasaje-

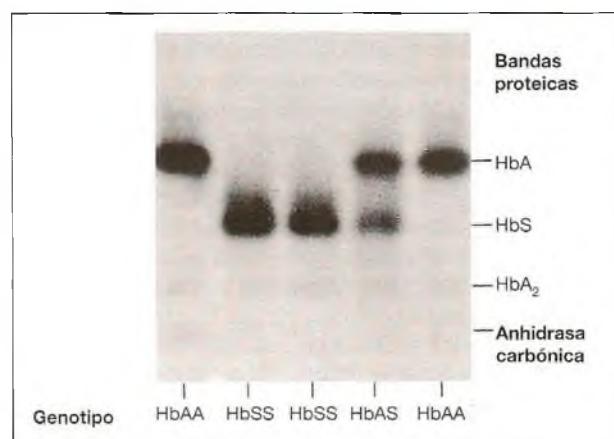


Figura 9.6. Electroforesis de hemoglobinas sobre acetato de celulosa y a pH alcalino de portadores de hemoglobinopatía S. En los individuos homocigotos (anemia falciforme) se aprecia una única banda de migración lenta situada algo por delante de la fracción HbA₂. Los portadores heterocigotos (rasgo falciforme) muestran, además de la fracción HbA, una banda lenta de HbS situada algo por delante de la HbA₂.

ros, que pueden durar días o semanas. Aunque pueden aparecer espontáneamente, lo más frecuente es que sean desencadenados por situaciones tan diversas como hipoxia, fiebre, infecciones, acidosis, deshidratación, hipotermia, cambios climáticos o estacionales y la menstruación. Obedecen a oclusiones de la microvasculatura que pueden afectar distintos territorios del organismo (huesos, tórax y zonas distales de las extremidades), generalmente acompañadas de infecciones, que suelen ser recidivantes. Una de sus manifestaciones más características es el dolor óseo generalizado o limitado a los huesos largos (húmero, fémur, tibias) en sujetos adultos o pequeños, de las extremidades superiores e inferiores (dactilitis) en los niños. La dactilitis da lugar al conocido «síndrome mano-pie», consistente en un dolor agudo y muy intenso con tumefacción subcutánea de la superficie dorsal de manos y pies, acompañado de impotencia funcional. Este síndrome puede confundirse fácilmente con un acceso de fiebre reumática o artritis séptica. Otras regiones que también suelen afectarse en las crisis dolorosas son la condrocostal (dolor torácico), vertebral (dolor dorso-lumbar) y el bazo (cuadro de dolor abdominal agudo). En un gran número de pacientes, la tomografía axial (TC) y la gammagrafía ósea permiten detectar precozmente estas lesiones. Otro territorio también afectado por las crisis vasooclusivas es el mesenterio, dando lugar a infartos de los vasos mesentéricos, que son causa de dolor abdominal muy intenso y de carácter agudo (síndrome mesentérico). Igualmente, la oclusión de vasos cerebrales es causa frecuente de accidentes neurológicos agudos, como hemiplejía, monoplejía y convulsiones¹⁶. La intensidad y gravedad de estas crisis vasooclusivas puede variar de un paciente a otro, y existen formas relativamente benignas o con escasa expresividad clínica. Estos casos suelen ir acompañados de aumentos importantes de la con-

centración de HbF, que ejerce un efecto protector contra la disminución de la solubilidad. Este efecto beneficioso de la HbF queda demostrado por: a) el comportamiento clínico más benigno cuando la concentración de HbF es elevada, como sucede por ejemplo en pacientes árabes homocigotos (HbSS) y en pacientes doble heterocigotos HbS/PHbF que son prácticamente asintomáticos; b) la demostración de una ausencia casi total de HbF en los drepanocitos irreversibles, al contrario de lo que sucede en los drepanocitos reversibles, y c) el efecto inhibidor *in vitro* de la HbF sobre la polimerización de la HbSS¹⁸. Las *infecciones* constituyen la complicación más frecuente de la anemia falciforme, y son responsables de un elevado porcentaje de fallecimientos en estos enfermos. Ello obedece a que no sólo constituyen una complicación del cuadro drepanocítico sino que son, en sí mismas, un factor desencadenante de las crisis. La incidencia de infecciones va disminuyendo progresivamente con la edad, ya que en los niños está muy facilitada por la pérdida de la función inmunitaria del bazo como consecuencia de la autoesplenectomía por microinfartos de repetición (hiposplenia o asplenia). Como infecciones más frecuentes destacan las debidas a *S. pneumoniae* y *H. influenzae*, aunque también suelen observarse osteomielitis, producida casi siempre por bacterias del género *Salmonella*. La complicación infecciosa más grave del cuadro drepanocítico es la septicemia posmeningitis por *S. pneumoniae* o *H. influenzae*, cuyas manifestaciones clínicas, siempre muy aparentes, suelen asociarse con coagulación intravascular diseminada (CID). Con menor frecuencia, pueden aparecer también infecciones pulmonares de carácter muy grave, con complicaciones tromboembólicas casi siempre producidas por *M. pneumoniae*¹⁹.

La aparición de fiebre, taquipnea e intenso dolor torácico (*síndrome torácico*) constituye la causa más frecuente de hospitalización de los pacientes con anemia falciforme. El síndrome torácico pone de manifiesto una afectación del sistema vascular pulmonar, que casi siempre va acompañada de infección o hipertensión pulmonar, y que suele cursar con una insuficiencia cardiorrespiratoria grave que puede ser causa de muerte²⁰. Menos frecuentes que las complicaciones pulmonares son las oclusiones vasculares agudas de otros territorios, entre los que destacan la retina, el sistema nervioso central (SNC) y los cuerpos cavernosos del pene. La trombosis de la arteria central de la retina puede constituir una causa de ceguera (amaurosis) y la de los cuerpos cavernosos del pene, de priapismo que, con el tiempo, se transforma en impotencia por fibrosis de los tejidos esponjosos eréctiles del pene. Ambas complicaciones son en general menos frecuentes que la trombosis cerebral, causa relativamente frecuente de apoplejía.

3. *Fase de expresividad crónica*. Es propia de los pacientes que han logrado sobrevivir la primera infancia, por lo que es característica de la adolescencia y la edad adulta (tabla 9.2). El carácter evolutivo crónico de la anemia falciforme afecta de forma importante al crecimiento y desarrollo corporal, al sistema nervioso

TABLA 9.2

Manifestaciones de la fase crónica de la anemia falciforme

- **Úlceras maleolares**
- **Necrosis óseas**
Enfermedad de Legg-Calvé-Perthes
- **Complicaciones oculares**
Retinopatía
- **Complicaciones pulmonares**
Insuficiencia respiratoria
- **Complicaciones cardíacas**
Insuficiencia cardíaca
- **Complicaciones renales**
Hipostenuria
- **Complicaciones hepatobiliarias**
Cirrosis difusa nodular
- **Complicaciones debidas a la hiperbilirrubinemia**

central, cardiovascular, pulmonar, hepatobiliar y gastrointestinal²¹. Asimismo, condiciona lesiones graves de la función renal y trastornos visuales que pueden conducir a la ceguera. Finalmente, otra complicación relativamente frecuente de la drepanocitosis en su fase crónica son las úlceras maleolares de evolución tórpida.

Retraso del crecimiento y lesiones osteoarticulares

Una de las manifestaciones más evidentes de la drepanocitosis en su fase crónica es el retraso del crecimiento, puesto de manifiesto por un peso y una altura inferiores a los que corresponden a la edad cronológica. Ello va acompañado de un retraso del desarrollo gonal, con hipogonadismo y aparición tardía de la pubertad y la menstruación. También la cronificación de los episodios agudos de dolor conduce a una destrucción progresiva de los huesos y articulaciones afectadas, con aparición de osteonecrosis en la epífisis de los huesos largos (cabeza de fémur) y en las vértebras (aplasteramiento vertebral), junto con derrames articulares que pueden ir acompañados de dolor intenso, fiebre y leucocitosis¹⁶. Con menor frecuencia, puede observarse también afectación de la calota craneal con engrosamiento del dípole e imagen radiológica «en cepillo», cuyas características son superponibles a las que se observan en la talasemia mayor. Todas estas alteraciones óseas pueden ponerse fácilmente de manifiesto mediante examen radiológico o gammagrafía ósea.

Sistema nervioso central

Durante la fase crónica, aunque pueden observarse crisis de apoplejía, los trastornos más comunes son la existencia de un cierto retraso psicomotor que explica las dificultades de aprendizaje y el déficit neuropsicológico que suelen presentar estos pacientes durante la edad escolar²². Para evitar en lo posible estas complicaciones, resultado del sufrimiento cerebral crónico, es muy recomendable prevenir en lo posible su desarrollo mediante técnicas que determinan la fluidez de la circulación cerebral como, por ejemplo, el Doppler trans-

cranial, o que facilitan la observación precoz de las mismas, como la tomografía computarizada (TC) y la resonancia magnética (RM).

Aparato cardiocirculatorio

La cronicidad de la anemia falciforme suele ir acompañada de cardiomegalia e insuficiencia ventricular izquierda en cuyo desarrollo pueden intervenir varios factores, como infartos múltiples de arterias pulmonares y miocárdicas, hemosiderosis miocárdica postransfusional e hipertensión arterial secundaria a insuficiencia renal. En estos casos, la ecocardiografía pone de manifiesto el aumento del tamaño ventricular y la sobrecarga funcional cardíaca impuesta por la anemia crónica y la hipertensión arterial. En ocasiones, aparecen signos clínicos de infarto agudo de miocardio sin afectación coronaria o aterosclerosis²¹.

Sistema pulmonar

En la fase crónica de la anemia falciforme es frecuente observar signos de insuficiencia respiratoria obstructiva secundaria a la afectación pulmonar por microinfartos de repetición y sobreinfecciones, que desembocan con el tiempo en una fibrosis pulmonar progresiva¹⁶. Este trastorno, al favorecer la hipoxia, contribuye a incrementar la frecuencia de las crisis de drepanocitosis y, con ello, la gravedad del cuadro clínico.

Sistema hepatobiliar

En la anemia falciforme, la hepatomegalia constituye un signo clínico prácticamente constante, casi siempre consecuencia del proceso hemolítico crónico (hemosiderosis) y de infecciones víricas postransfusionales. Esta hepatopatía va acompañada de signos biológicos de afectación hepatobiliar (aumento moderado de transaminasas o fosfatasa alcalina del plasma) e histológicos de eritrofagocitosis, con aumento de pigmentos de hemosiderina y un grado variable de fibrosis periportal. Otra consecuencia hepatobiliar de la hemólisis crónica e hipercatabolismo de la hemoglobina es la litiasis biliar, que afecta al 10-15% de pacientes.

Función renal

Las complicaciones renales de la anemia falciforme son relativamente frecuentes y obedecen, mayoritariamente, a la necrosis papilar que aparece como consecuencia de microtrombosis en la región de las asas de Henle. El aumento local del hematocrito, la osmolaridad y la disminución del pH y de la presión parcial de oxígeno (pO_2) hacen de esta región un lugar idóneo para la falcificación y microinfartación de las papilas y pirámides de la pelvis renal. La consecuencia fisiopatológica de este trastorno es la pérdida de la capacidad renal para concentrar y diluir la orina (hipostenuria), y la eventual aparición de hematuria macroscópica. Esta última también puede ser consecuencia de una glomerulonefritis estreptocócica, complicación relativamente frecuente de la HbS²³. El síndrome nefrótico, aunque posible, no constituye una complicación tan frecuente como la anterior, y suele ir acompañado de hipertensión, hematuria y disminución progresiva de la función renal. Incluso en ausencia de manifestaciones clínicas de afec-

tación renal, un elevado número de pacientes con anemia falciforme presentan proteinuria y un moderado aumento de la creatinina plasmática, lo que pone de manifiesto la frecuencia de la afectación renal crónica en esta enfermedad. Aunque la insuficiencia renal aparece en sólo el 4% de pacientes con anemia falciforme, constituye una importante causa de muerte en la edad adulta. La hemodiálisis y la administración de eritropoyetina recombinante (HrEpo) en caso de anemia intensa, constituyen, en este caso, medidas terapéuticas de elección.

Trastornos oculares

Dentro de la extensa y bien conocida patología que se produce en la drepanocitosis, existen los cambios patológicos que aparecen a nivel ocular, con trastornos circulatorios en la conjuntiva y cambios retinianos consistentes en el emblanquecimiento y condensación de vástago basal, cambios en los vasos periféricos, lesiones coriorretinales pigmentadas en la periferia de la retina (iridiscentes, de color cobre), depósitos brillantes, retinitis proliferativa, hemorragias retinianas y desprendimiento de retina. Los cambios en la retina central incluyen tortuosidad y dilatación de la red capilar, con formación de microaneurismas y cicatrices negras en forma de disco, con pigmentación espiculada y estrellada (signo de «llamas solares negras»), que se asocian con obliteración arterial y, en menor grado, venosa.

Las complicaciones oculares obedecen a oclusiones de los pequeños vasos de la retina que ocasionan sufusiones hemorrágicas y signos proliferativos característicos de neoformación vascular compensadora. Debido a ello, se produce una retinopatía proliferativa cuyas características y evolución son muy similares a las de la retinopatía diabética: alteraciones de la visión, con aparición de fotopsias, moscas volantes y adherencias coriorretinianas que, con el tiempo, pueden facilitar un desprendimiento de retina. Otra complicación relativamente frecuente de la anemia falciforme es el hifema o sufusión hemorrágica en la cámara anterior del globo ocular.

Úlceras maleolares

Este trastorno se ha descrito siempre como una complicación característica de la anemia falciforme, ya que se observa en más del 50% de pacientes. Constituye una complicación menos grave en comparación con las mencionadas anteriormente, y su aparición resulta favorecida por traumatismos y ciertas infecciones (linfangitis y osteomielitis). Aunque no son muy dolorosas, las úlceras presentan un carácter tórpido que dificulta su resolución definitiva.

Impotencia

Consecuencia de la fibrosis de los cuerpos cavernosos del pene como consecuencia de la trombosis crónica, con priapismo.

Síndromes drepanocíticos moderados

Son formas de anemia falciforme con un cuadro clínico menos llamativo que el de la drepanocitosis clásica y que, casi siempre, obedecen a genotipos mixtos, es decir, dobles heterocigotos HbS con otras hemoglobinas o talasemias. Algunos pacientes portadores ho-

mocigotos de HbS (HbSS) sin otra alteración genética demostrable también pueden presentar formas benignas de drepanocitosis. En este caso, el defecto suele diagnosticarse pasada la primera infancia, y los pacientes con una concentración de hemoglobina que oscila entre 95 y 125 g/L sólo sufren ocasionales crisis de hemólisis acompañadas de dolor musculoesquelético moderado, que no les impide desarrollar una vida prácticamente normal. Estas formas de anemia falciforme se observan especialmente en individuos de origen árabe con concentración de HbF elevada (alrededor del 20%) y relación δ^G/δ^A similar a la de la HbF normal. Igualmente, los portadores heterocigotos de HbS y persistencia hereditaria de Hb fetal (HbS/PHbF) con un 20% aproximadamente de HbF, suelen carecer de manifestaciones clínicas, a pesar de que el 80% de su hemoglobina es HbS. Ello se ha atribuido al carácter uniforme de la distribución de la HbF eritrocitaria en estos pacientes, a diferencia del carácter irregular que se observa en la anemia falciforme clásica. También, la coexistencia de diferentes haplotipos del gen β^S se ha asociado con síndromes drepanocíticos con expresividad clínica reducida o más benigna.

Otra causa de variabilidad en la expresión clínica de la enfermedad es la asociación HbS y talasemia. Debido a que en ciertos países la frecuencia de portadores HbS y talasémicos (β -tal) es elevada, el hallazgo de fenotipos doble heterocigotos HbS/ β -tal no resulta ocasional. Entre ellos, los más frecuentes son los fenotipos HbS/ β^0 -tal, HbS/ β^+ -tal y HbS/ $\delta\beta$ -tal. La expresividad clínica de estas asociaciones es variable, al igual que su expresividad biológica y, en general, cursan con microcitosis e hipocromía (disminución de la CCMH) con concentraciones variables de HbA. Menos frecuente es la coexistencia en un mismo individuo del gen β^S con el de α -talasemia (α^+ -tal o α^0 -tal), y se caracteriza por una anemia más leve, moderado aumento de HbA₂ y valores de VCM y CCMH disminuidos. En estos pacientes, la concentración de HbF es elevada, y la disminución de la CCMH favorece la solubilidad de la HbS (menor proporción de drepanocitos irreversibles) y disminuye su tendencia a la falciformación. El resultado es un comportamiento clínico más benigno y, por tanto, un mejor pronóstico. No obstante, al existir una mayor concentración de hemoglobina (hematócrito más elevado) existe un mayor riesgo de fenómenos trombóticos y, con ello, de crisis vasooclusivas¹³. El 50% de estos pacientes, aproximadamente, muestran también una esplenomegalia palpable.

■ Diagnóstico de la anemia falciforme

El diagnóstico de la drepanocitosis, independientemente de sus diferentes formas clínicas, requiere la realización de las siguientes pruebas de laboratorio: a) hemograma con recuento de reticulocitos; b) examen de la morfología eritrocitaria; c) pruebas de solubilidad o falciformación; d) electroforesis de hemoglobinas, y e) análisis del gen HbS mediante PCR.

Hemograma. En la anemia falciforme, el hemograma se caracteriza por anemia, generalmente intensa (Hb entre 70 y 90 g/L), moderada leucocitosis neutrofílica (15-30 $\times 10^9/L$) y trombocitosis. La anemia es normocítica (VCM

entre 83 y 98 fL) o moderadamente macrocítica (VCM alrededor de 100 fL) debido a la intensa reticulocitosis ($> 150 \times 10^9/L$). La CCMH suele hallarse dentro de los límites normales o algo disminuida (< 320 g/L), también debido al efecto de la reticulocitosis. El VCM tiene especial importancia en el estudio inicial de la anemia falciforme. En principio, su valor debe ser normal, aunque no es frecuente que muestre cierto aumento debido a la reticulocitosis. Por ello, el hallazgo de valores de VCM disminuidos (VCM < 83 fL), especialmente en presencia de reticulocitosis intensas, debe hacer sospechar la existencia de una asociación HbS/ β -talasemia. En este caso, debe realizarse, siempre que sea posible, un estudio familiar y la cuantificación precisa de la concentración de HbA₂ y HbF. Otras causas que pueden disminuir el VCM en la anemia drepanocítica son la ferropenia y la asociación de la HbS y α^0 -talasemia. El déficit de hierro puede obedecer tanto a la malnutrición como a la pérdida urinaria secundaria a las crisis hemolíticas periódicas, y su diagnóstico requiere un estudio completo del metabolismo del hierro (ferritina, sideremia y capacidad de saturación de la transferrina). La asociación de HbSS (homocigota) con α -talasemia puede dar varios cuadros clínicos de intensidad variable, acompañados de un diferente comportamiento electroforético.

Observación de la morfología eritrocitaria. Es una prueba diagnóstica fundamental ya que permite establecer el diagnóstico al apreciar una proporción variable, pero siempre superior al 10%, de eritrocitos intensamente deformados (drepanocitos irreversibles), alargados y algo curvados, que poseen una característica forma de hoz (sickle-cell) o de semiluna (fig. 9.5). Esta alteración morfológica, debida a la polimerización de la HbS, va acompañada de una pérdida de deformabilidad eritrocitaria que, a veces, puede falsear los resultados del recuento electrónico y dar valores excesivamente elevados de VCM.

Pruebas de solubilidad y falciformación. Constituyen procedimientos muy simples para complementar la información aportada por el hemograma y el examen morfológico de los eritrocitos.

La prueba de la solubilidad consiste en observar la precipitación de la HbS cuando el hemolizado se incuba en presencia de ditionito sódico, que actúa como agente reductor^{16,17}.

La prueba de la falciformación consiste en inducir la formación de eritrocitos falciformes (drepanocitosis) *in vitro* exponiendo la sangre total a un estado de desoxigenación. Para ello se coloca una suspensión de eritrocitos sobre un portaobjetos, se añade un agente desoxigenante (metabisulfito o ditionito sódico al 2%) y se cubre con un cubreobjetos sellando las esquinas para evitar, en lo posible, el contacto de la sangre con el oxígeno ambiental. Pasados unos minutos, se observa, mediante un microscopio, la posible inducción de eritrocitos falciformes¹⁸.

■ Electroforesis de hemoglobinas

La electroforesis de hemoglobinas a pH alcalino es el procedimiento diagnóstico que, por su simplicidad, pre-

cisión y bajo coste, ofrece un mayor rendimiento. Empleando esta técnica, los individuos homocigotos (HbSS) muestran una fracción de hemoglobina mayoritaria que migra algo por detrás de la HbF, y ausencia total de HbA. En caso de portadores heterocigotos (HbAS), se aprecian dos fracciones hemoglobínicas de intensidad similar y un moderado aumento de HbF, y aumento de A₂ (fig. 9.6).

El empleo de isoelectrofocalización y cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) puede ser útil para la realización de estudios familiares extensos o el escrutinio de la hemoglobinopatía.

Lamentablemente, en los síndromes drepanocíticos el patrón electroforético no es tan simple ni tan sencillo de interpretar como en los casos de HbSS y HbAS. Tal sucede cuando la HbS coexiste con otras hemoglobinopatías estructurales o talasemias. La asociación HbSC no suele crear problemas, ya que la electroforesis permite diferenciar claramente las dos fracciones de HbS y HbC. Por el contrario, en caso de HbS/β-talasemia pueden surgir ciertas dificultades. A continuación, se exponen algunas de las posibilidades más frecuentes y su interpretación:

1. En caso de HbS/β⁺-talasemia, existe un claro predominio de la HbS (70-90%) sobre la HbA normal (10 a 30%), mientras que en la drepanocitosis heterocigota (HbAS), sin talasemia, se aprecia un moderado predominio de la fracción HbA normal (50-60%) sobre la HbS (30-40%). Además, en ambos casos existe también un aumento de HbA₂, más acusado en la HbS/β⁺-talasemia (HbA₂ > 4,5%). El elemento diferenciador es el VCM que se halla disminuido en la HbS/β⁺-talasemia y normal en la HbAS. No obstante, la consideración de la HbA₂ y el VCM como elementos para el diagnóstico diferencial carecen de valor en recién nacidos (RN), donde éste deberá realizarse según los porcentajes relativos de HbA y HbS.
2. En caso de HbS/β⁰-talasemia, el patrón electroforético es superponible al de la drepanocitosis homocigota (HbSS), con la salvedad del VCM, que sólo disminuye en la HbS/β⁰-talasemia. Por ello, en ambas situaciones, especialmente en RN donde la consideración del VCM es más difícil, el diagnóstico diferencial exige el empleo de biología molecular. Con todo, es importante no olvidar que una transfusión reciente puede falsear por completo el patrón electroforético, que puede confundirse con el de una drepanocitosis heterocigota debido al efecto de los eritrocitos normales infundidos.
3. En caso de aumento de la HbF las posibilidades son diversas, porque muchos síndromes drepanocíticos cursan con HbF elevada:
 - a) Anemia drepanocítica ($\beta^S\beta^S$).
 - b) HbS y β⁰-tal (β^S/β^0).
 - c) HbS y δ-β-tal ($\beta^S/\delta\beta^0$).
 - d) HbS y PHHF ($\beta^S/PHHF$).
 - e) Anemia drepanocítica y α-tal (-α/-α; β^S/β^S).
 - f) Anemia drepanocítica y PHHF heterocelular (β^S/β^S ; PHHF).
 - g) Dobles heterocigotos HbS con otras hemoglobinopatías estructurales:
 - De la cadena β (p. ej., HbC, HbG-Filadelfia).

- De la cadena α (p. ej., Hb Korle-Bu).

Los dobles heterocigotos HbS y HbG-Filadelfia y Hb Korle-Bu son dos ejemplos que ilustran la dificultad que, a veces, entraña la interpretación de los patrones electroforéticos en estos casos. Así, ambos pacientes, de raza negra, fueron diagnosticados durante muchos años como portadores de «drepanocitosis atípica». Por ello siempre que surjan dificultades, la electroforesis de hemoglobinas debe completarse con un estudio familiar, lo más amplio posible, y un conjunto de pruebas que deberán realizarse si el caso en concreto lo hace aconsejable⁴⁰:

- a) Electroforesis de hemoglobinas a diferentes valores de pH.
- b) Cuantificación de las fracciones HbA, HbF y otras.
- c) Prueba de Kleihauer (tinción de la HbF en porta).
- d) Prueba de la síntesis de cadenas de globina.
- e) Análisis del DNA mediante PCR:
 - HbS (*).
 - β-talasemias (**).
 - α-talasemias.
- f) Caracterización fenotípica de los haplotipos de HbS.

(*) La identificación de la mutación causante de la hemoglobina S (β^S CD6 GAG > GTG) debe realizarse mediante PCR-ARMS (*amplification refractory mutation system*) que es una técnica basada en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y que permite diferenciar entre carácter homocigoto y heterocigoto de la HbS. En este último caso permite también detectar la posible coexistencia de otras hemoglobinopatías o genes talasémicos asociados al gen HbS (dobles heterocigatos y HbS/betatalasemia).

(**) El análisis molecular de la talasemia beta se efectúa amplificando por PCR una porción del gen en estudio con empleo de cebadores específicos, seguida de la digestión con enzimas de restricción que permitan detectar la presencia de mutaciones. En la práctica clínica se realiza el escrutinio de las mutaciones más frecuentes en nuestro medio geográfico: IVS-I-1(G G62279A), IVS-I-6(T62284C), CD6(-A), CD37(G62429A), CD-39(C62434T) e IVS-I-110 (G62388A), causantes del 85% de las betatalasemias en España⁴⁰.

■ Pronóstico y prevención

El pronóstico de la anemia falciforme depende, en gran parte, de factores moduladores de la expresión clínica, entre los que destacan la concentración de HbF y la coexistencia de mutaciones genéticas para otras hemoglobinopatías o talasemias. El más importante es, con todo, la concentración de HbF, ya que al no participar en el proceso de polimerización, cuando su concentración es elevada disminuye la tendencia a la falcificación. La concentración de HbF depende, a su vez, de otros factores, en gran parte constitucionales, como la edad, el sexo, el número de genes α, los haplotipos del gen β y la actividad del locus FCP (*F-cell production*). El locus FCP es un gen que regula la producción de HbF en los pacientes con anemia falciforme²⁴ y se halla situado en el cromosoma sexual X (Xp22,2). Debido a ello, la producción de HbF es superior en las mujeres, independientemente de que sean o no portadoras del gen β^S. En este último caso,

se ha observado que las mujeres con anemia falciforme y portadoras del haplotipo «Senegal», poseen mayor HbF que los varones con idéntico haplotipo. Igualmente, la existencia de polimorfismos del gen β determina diferencias de comportamiento clínico entre razas africanas, mediterráneas y asiáticas. En las poblaciones africanas y en las del litoral mediterráneo, el haplotipo predominante es el tipo «Benín» y en las asiáticas, el tipo «Senegal». La asociación de este último con una mayor síntesis de HbF explica la menor predisposición a padecer crisis vasoocclusivas y, por tanto, su comportamiento clínico más benigno²⁵.

La incorporación del diagnóstico precoz mediante programas de cribado neonatal, la educación sanitaria y las posibilidades terapéuticas han significado, a lo largo de los últimos años, una sensible mejora en el pronóstico y calidad de vida de los pacientes afectados de drepanocitosis homocigota.

■ Tratamiento

La anemia falciforme debe ser tratada siempre teniendo en cuenta su carácter crónico y la frecuencia de las complicaciones. Una de las mejores opciones para estos enfermos es prevenir, en lo posible, la aparición de crisis agudas vasoocclusivas, procurando evitar en lo posible todas aquellas situaciones que favorezcan su aparición, como por ejemplo, infecciones, acidosis, hipoxemia y exposición al frío, como las más importantes. La Sociedad Española de Hematología Pediátrica (SEHP) ha diseñado un protocolo para el diagnóstico y tratamiento de la anemia de células falciformes²⁶, y el Sickle Cell Information Center de Georgia, en EE.UU. (www.sickle-cell.org) propone seguir las siguientes pautas generales de tratamiento:

1. Tomar ácido fólico (folato) diariamente para garantizar el funcionamiento de la eritropoyesis.
2. Administrar penicilina con carácter preventivo hasta los seis años de edad para evitar, en lo posible, la aparición de infecciones graves.
3. Mantener un buen estado de hidratación mediante la ingesta de 8 a 10 vasos de agua al día (adultos).
4. Evitar en lo posible los ambientes excesivamente fríos o calurosos.
5. Evitar el ejercicio intenso y los estados de estrés.
6. Procurar un máximo reposo.
7. Realizar controles médicos periódicos.

Tratamiento de las crisis vasoocclusivas

El tratamiento básico de la anemia falciforme es el de las crisis dolorosas, y consiste principalmente en el empleo de medicamentos y fluidos para reducir el dolor y prevenir las complicaciones. Para ello, lo más prudente es la hospitalización del paciente al objeto de mejorar su estado de oxigenación, evitar la deshidratación y administrar antibióticos y analgésicos^{27,28}. Como analgésicos pueden usarse, en caso de dolores muy intensos, los opiáceos (morphina, meperidina o hidromorfina) por vía parenteral en dosis terapéuticas a intervalos fijos de 3 horas, u otros fármacos, como la hidroxizina, difenhidramina, prometazina, asociados con antiinflamatorios no esteroides (AINE). Cuando mejora el dolor, puede ir reducién-

dose la administración parenteral de analgésicos y optar por el empleo de analgésicos por vía oral. Una vez de alta, es recomendable que estos pacientes dispongan siempre de tabletas de acetaminofeno con codeína, por si aparece un nuevo episodio de dolor agudo. En caso de deshidratación, o para prevenirla, debe administrarse, por vía parenteral o digestiva hidratación en cantidad de 2-4 L/m² cada 24 horas.

Tratamiento de las infecciones

La elevada frecuencia de infecciones neumocócicas en la anemia falciforme, especialmente en niños de corta edad, obliga a establecer pautas de inmunización preventiva (vacunación) frente a *S. pneumoniae* y *H. influenzae*, o administración profiláctica de penicilina por vía parenteral cada 3 semanas²⁶.

En general, es recomendable que los niños entre 2 y 5 años de edad con anemia falciforme sean vacunados frente al neumococo (PCV-7) y tomen penicilina dos veces al día, comenzando a los 2 meses de edad y continuando hasta, por lo menos, los 5 años de edad. Recientemente, sin embargo, se ha comunicado la existencia de varias formas nuevas de neumococo que son resistentes a la penicilina¹³.

Transfusiones

Los pacientes con anemia falciforme presentan una buena adaptación a la anemia, incluso para valores tan bajos como 50 g/L de hemoglobina en sangre, por lo que, siempre que sea posible, debe evitarse la transfusión, limitándola a aquellos casos en los que sea estrictamente imprescindible. Las transfusiones no son inocuas, ya que pueden ser, en sí mismas, causa de complicaciones graves, como inmunización alogénica, hemosiderosis y eventual vía para la transmisión de enfermedades. En general, consisten en la administración de concentrados eritrocitarios hasta conseguir valores de concentración de hemoglobina en sangre de entre 100 a 120 g/L. Es muy importante no superar este límite, ya que podrían aparecer complicaciones por hiperviscosidad sanguínea y aumento brusco de la volemia.

La transfusión de sangre también puede estar indicada en la prevención del riesgo de accidentes vasculares cerebrales en niños que deben someterse a intervenciones quirúrgicas por complicaciones graves de la drepanocitosis y, con ello, al peligro de la anestesia general^{26,29}. En estos casos, es importante un control del flujo sanguíneo mediante ultrasonografía Doppler transcranial, y conseguir valores de hematocrito cercanos a 0,30 L/L después de la transfusión. Otra posibilidad es reducir, previamente a la intervención, la concentración de HbS hasta valores inferiores al 30% mediante una exsanguinotransfusión.

Hidroxiurea

Es un hecho bien demostrado que una concentración elevada de HbF reduce la tendencia de la HbS a formar polímeros y, por tanto, la falcificación. Por ello, una de las opciones terapéuticas más eficaces es el empleo de hidroxiurea (HU), un agente alquilante (inhibidor de la fase S del ciclo celular) muy empleado en el tratamiento de los síndromes mieloproliferativos crónicos y

que ha demostrado ser un eficaz inductor de la síntesis de HbF. Ensayos clínicos a doble ciego han demostrado que el tratamiento con HU de pacientes con anemia falciforme reduce significativamente la frecuencia de las crisis vasoocclusivas, el síndrome agudo de dolor torácico, el requerimiento transfusional y, por ende, la frecuencia de hospitalizaciones³⁰. Desde el punto de vista hematológico, la administración de HU disminuye el número de eritrocitos falciformes circulantes y la intensidad de la hemólisis, y aumenta la concentración de HbF. Ello redundó en un aumento de la concentración de hemoglobina (disminución de la anemia) y en un descenso del número de neutrófilos y monocitos (disminución del riesgo trombótico). La HU disminuye también la adherencia de los eritrocitos falciformes al endotelio, a la vez que disminuye la velocidad de polimerización. Este conjunto de acciones beneficiosas se traducen en una evidente mejora del estado clínico del paciente. Se ha observado que los pacientes con valores más elevados de granulocitos y reticulocitos son los que responden mejor a la administración de HU ya que son en los que con mayor rapidez se aprecia un aumento de la HbF. Esto pone de manifiesto una mayor capacidad de respuesta medular al estímulo del fármaco, frente a otros casos en los que una respuesta clínica escasa va acompañada de aumentos mucho más discretos de HbF. Estudios similares se han realizado también en niños, observándose una acción igualmente eficaz de la HU con un índice mínimo de toxicidad a corto plazo³⁰.

Con todo, y a pesar de su efecto beneficioso en el tratamiento de la anemia falciforme, la HU debe administrarse con precaución, ya que se trata de un agente alquilante y potencialmente mutagénico, aunque sus efectos a largo plazo en pacientes con hemoglobinopatía S están aún por ver, especialmente cuando su administración se inicia a edades tempranas. La realidad es que, hasta el momento, no se han descrito aún roturas cromosómicas, recombinaciones genéticas o mutaciones de los genes p53, N-ras, K-ras, en pacientes con anemia falciforme y tratados con HU. Esto contrasta con el hecho de que el tratamiento con HU de pacientes con policitemia vera (PV) muestra una frecuencia de transformación leucémica que oscila entre el 5 y el 10%. Por ello, y a pesar de su indudable efecto beneficioso, la administración de HU sólo está indicada en adolescentes o adultos con episodios de dolor muy frecuentes, historia de síndrome torácico agudo con complicaciones vasoocclusivas graves o con anemia muy intensa¹³. Asimismo, en caso de optar por el tratamiento con HU debe realizarse un control periódico de sus efectos mediante la práctica de hemogramas (valorando de manera especial el VCM), de la HbF y otras magnitudes bioquímicas del plasma. Nunca debe aplicarse tratamiento con HU a mujeres embarazadas ni a pacientes sometidos a transfusiones, en cuyo caso, éstas deben ser interrumpidas.

La dosis inicial es de 500 mg/día en adultos, y de 10 a 15 mg/kg/día en niños con menos de 30 kg de peso. La toma debe realizarse por la mañana, durante 6-8 semanas, y practicar un hemograma cada 2 semanas para controlar la concentración de granulocitos ($> 2 \times 10^9/L$) y plaquetas ($> 80 \times 10^9/L$). A partir de las 6-8 semanas,

la dosis puede aumentarse a razón de 1 g/día hasta un máximo de 1.500-2.000 mg/día, siempre que se aprecie un hemograma estable. Cuando se observe intolerancia, la dosis debe reducirse a menos de 10 mg/kg/día. El tratamiento mediante HU va acompañado de un aumento del VCM, cuyo valor guarda relación directa con el de la HbF, de manera que es un índice fiable del mismo. Si después de unos días de tratamiento no se observa aumento del VCM, es que no existe una buena respuesta o que el tratamiento no se está realizando correctamente. Hasta que se obtenga la dosis óptima, el hemograma debe hacerse cada 2 semanas, y luego se debe hacer mensualmente. En el 10-25% de los pacientes adultos existe una falta de respuesta a la administración de HU, debido a otros trastornos concomitantes de la médula ósea, a factores genéticos o a variaciones en el metabolismo del medicamento. Debido a esta variabilidad en la respuesta a la HU entre diferentes pacientes, pueden ser necesarios muchos meses de tratamiento hasta encontrar la dosis óptima de respuesta²⁴. En algunos pacientes, la administración simultánea de eritropoyetina (Hr-Epo) parece potenciar el efecto beneficioso de la HU sobre la anemia.

Trasplante de médula ósea

El trasplante de médula ósea (TMO) fue utilizado por vez primera en Europa hace ya bastantes años como única alternativa terapéutica en pacientes con drepanocitosis de muy mal pronóstico (1%, aproximadamente, de los pacientes con anemia falciforme). Aunque la respuesta observada ha sido muy aceptable (supervivencia libre de complicaciones en el 80% de casos), el potencial riesgo de mortalidad y el elevado coste económico hacen que este tratamiento se reserve únicamente para aquellos pacientes menores de 16 años, con donante HLA-compatibile y determinados criterios de gravedad (accidentes vasculares cerebrales, dolor agudo torácico recurrente o dolor refractario al tratamiento) y que no presenten signos de mal pronóstico (disminución de la HbF y coexistencia de talasemia)^{31,32}. Hasta la actualidad, más de 100 pacientes con anemia falciforme han sido sometidos a TMO, con una supervivencia a los 5 años libre de complicaciones del 70-85% y con enfermedad del donante contra el receptor (GVHD) en el 15% restante. Lamentablemente, el seguimiento de los pacientes que han sobrevivido es aún excesivamente corto, y la toxicidad del TMO a largo plazo aún se desconoce. Probablemente, otras posibilidades más beneficiosas y menos peligrosas son las que propugnan el empleo de células madre procedentes de sangre del cordón umbilical^{33,34}.

Tratamientos experimentales

Tratamiento con ácidos grasos de cadena corta. La administración de metabolitos de los ácidos grasos como, por ejemplo, el ácido α -aminobutírico (butirato) y el fenilbutirato sódico constituyen otra opción para incrementar el número de eritrocitos con HbF (células F). Aunque los primeros ensayos clínicos mostraron resultados alentadores (aumento en la concentración de hemoglobina y HbF), estudios posteriores no llegaron a confirmarlos, por lo que en realidad aún se desconoce si

la respuesta es estable o clínicamente beneficiosa^{35,36}. También se ha intentado la administración de butirato de arginina a elevada concentración dos veces al mes con respuestas favorables (aumento significativo y estable de la HbF), aunque se requieren estudios sobre un número más elevado de pacientes para asegurar de manera definitiva su eficacia en el tratamiento de la anemia falciforme.

Deshidratación de los eritrocitos. Diversos estudios sugieren que favoreciendo la hidratación de los eritrocitos con elevado contenido en HbS puede reducirse significativamente su tendencia a la polimerización. Con esta idea se han ensayado diversos fármacos que bloquean los canales de transporte catiónico de la membrana eritrocitaria, revertiendo su contenido catiónico y acuoso hacia valores próximos a la normalidad. Uno de ellos es el clotrimazol, un agente antimicótico, que disminuye el grado de deshidratación de los eritrocitos *in vitro* (ratas transgénicas con enfermedad SS) pero también en pacientes con anemia falciforme¹³. Después de observar que en las ratas transgénicas la combinación del clotrimazol con hidroxiurea y eritropoyetina recombinante (Hr-Epo) ejercía cierto efecto favorable, se han realizado algunos estudios piloto en humanos pero aún sin resultados concluyentes. Las sales de magnesio, con acción similar a la del clotrimoxazol, parecen tener un efecto beneficioso e, igualmente, bajas concentraciones de óxido nítrico, al aumentar la afinidad de la HbS por el oxígeno, disminuirían su tendencia a polimerizar. Finalmente, investigaciones más recientes abogan por el empleo de la terapia génica para inactivar el HbS^B o su RNAm, aumentar la expresión del gen que controla la síntesis de HbF o introducir genes cuyos productos inhiban la polimerización de la HbS.

Hemoglobina C (HbC)

La HbC es en frecuencia la segunda hemoglobinopatía después de la HbS. Obedece a una mutación (G → A) en el codón 6 del gen β globina que causa la sustitución del ácido glutámico por lisina (β6 Glu → Lys). Se trata de una hemoglobinopatía prácticamente exclusiva de la raza negra, que se localiza preferentemente en la región centrooccidental del continente africano con alta frecuencia (20-28% de la población) en el norte de Ghana y Alto Volta, y menor (alrededor del 4%) en el sur de Ghana y en la región más occidental de Nigeria³⁷. Su presencia en individuos de raza blanca es infrecuente, y debido a su falta de expresividad clínica, suele pasar desapercibida. Se han descrito focos de HbC en determinadas áreas geográficas del litoral mediterráneo (Italia, Grecia y España, principalmente). En España, se halla localizada en áreas relativamente restringidas de Andalucía y Extremadura³⁸.

Al igual que la HbS, va acompañada de una alteración de la carga eléctrica superficial del eritrocito y de una disminución de la solubilidad, por lo que la hemoglobina tiende a cristalizarse. Mediante electroforesis convencional a pH alcalino, la HbC al tener más carga positiva que la HbA migra con mayor lentitud, y su movilidad es superponible a la de la fracción HbA₂, y las hemoglobinopatías HbE y HbO, entre otras (fig. 9.1). Para diferen-

ciar la HbC de las HbE y HbO puede emplearse electroforesis en gel de agar a pH ácido (6,4) y de la HbA₂ mediante cromatografía de alta resolución (HPLC) en CM-celulosa (CM-52) o en CM-Sephadex (C-50)³⁹.

Las moléculas de HbC se encuentran en un estado precrystalino debido a su elevada concentración intraeritrocitaria (CCMH > 400 g/L), lo que favorece su cristalización. Así, los eritrocitos de individuos homocigotos (HbCC) forman cristales intracelulares cuando se suspenden en un medio hipertónico, ya que en estas condiciones la CCMH puede mostrar valores cercanos a 48 g/L, que son críticos para el inicio de la cristalización. Esta cristalización puede resultar favorecida por la hipoxia. La elevada densidad hemoglobínica del interior del eritrocito explica una importante disminución de la deformabilidad, que puede ponerse fácilmente de manifiesto mediante ektacitometría. Debido a esta rigidez, estos eritrocitos difícilmente atraviesan la microcirculación, y tienen una supervivencia disminuida (anemia hemolítica).

Manifestaciones clínicas

HbC homocigota (HbCC). Los pacientes que son homocigotos para HbC son sintomáticos o muestran una anemia muy moderada (Hb: 80 y 120 g/L), acompañada de reticulocitosis también moderada. La HCM es normal, pero la CHCM se halla característicamente aumentada. La observación morfológica de la extensión de sangre teñida muestra los característicos cristales intraeritrocitarios de HbC, la mayoría de las veces en forma de barra gruesa. Junto a ello, se observan también eritrocitos en diana más pequeños que los que se observan en la hepatopatía crónica (fig. 8.20).

Muchos de estos enfermos se diagnostican con ocasión de exámenes clínicos rutinarios o al detectarse la esplenomegalia que, con relativa frecuencia, acompaña a esta hemoglobinopatía. No es infrecuente la existencia de episodios intermitentes de dolor abdominal, artralgias, y mucho más raras son las manifestaciones hemorrágicas o el priapismo. Como en todo síndrome hemolítico crónico, puede coexistir litiasis biliar, crisis de aplasia con motivo de una infección por el parvovirus humano (PVH) B19 o hiperesplenismo, condiciones todas ellas que agravan el cuadro clínico. La vida media eritrocítica está disminuida, con secuestro esplénico. Durante el embarazo, la anemia puede agravarse y, en ocasiones, puede desarrollarse también un cuadro de neumonía, particularmente de tipo viral, que facilita el diagnóstico.

El diagnóstico de HbCC requiere un estudio electroforetico de hemoglobinas que muestra el 90% o más de HbC y un pequeño aumento de HbF. La fracción HbA es totalmente inexistente, aunque ésta tampoco se encuentra en el genotipo doble heterocigoto HbC/β⁰-tal, con el cual debe establecerse el diagnóstico diferencial.

HbC heterocigota (HbAC). Es totalmente asintomática, tanto desde el punto de vista clínico como hematológico. Cabe destacar como dato anecdotico, pero no exento de interés clínico, que existen analizadores que, gracias a emplear procedimientos citoquímicos para la realización de la fórmula leucocitaria, no se produce lisis de los eritrocitos en el canal de las peroxidásas (H 6000 de Technicon)

con lo que éstos son falsamente analizados como linfocitos. Este artefacto permite un escrutinio simple y rápido de esta hemoglobinopatía, cuya confirmación requiere la realización de una electroforesis convencional⁴⁰.

Doble hemoglobinopatía S y C (HbSC). Es un síndrome drepanocítico doble heterocigoto, resultado de la herencia del gen β^S de un parente y del gen β^C de la madre. La interacción entre la HbS y la HbC favorece la falcificación. La enfermedad por SC es de un curso más benigno que la drepanocitosis, aunque siempre cursa con hemólisis (anemia moderada) y algunas de sus complicaciones parecen ser más frecuentes que en la forma homocigota de HbS (lesiones óseas y patología ocular). Las manifestaciones más frecuentes en la enfermedad SC son hematuria renal recidivante, necrosis aséptica de la cabeza del fémur o del húmero, episodios de infarto pulmonar, complicaciones al final del embarazo y en el puerperio y, con mayor frecuencia, manifestaciones oculares, como la retinopatía proliferativa, las hemorragias del vítreo y el desprendimiento de retina.

La exploración oftalmológica por el especialista debe formar parte de la asistencia interrumpida de todos los pacientes con síndromes drepanocíticos, lo que permite la prevención de trastornos oculares mediante fotocoagulación con láser o la crioretinopexia.

Otras hemoglobinopatías con alteración de carga superficial

Otras hemoglobinopatías con alteración de la carga superficial pero con solubilidad normal son la HbD, (D-Los Angeles, D-Punjab), la HbO Arab, la HbG y la HbE. Aunque la mayoría de ellas pueden diferenciarse entre sí mediante electroforesis convencional sobre acetato de celulosa (pH 8,6), a veces se requiere el empleo de diferentes soportes y valores de pH (electroforesis en gel de agar a pH 6,0) o de la electrofocalización³⁹. La identificación del tipo de mutación exige, no obstante, un estudio estructural de la globina afectada, mediante procedimientos diversos, como el análisis de fragmentos peptídicos en cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) o la secuenciación de la cadena proteica o identificación directa del aminoácido mutado^{41,42}.

La HbD presenta una movilidad electroforética a pH alcalino idéntica a la de la HbS, por lo que deben emplearse otros soportes y pH para diferenciarlas. Entre ellos, destaca la electroforesis sobre soporte en gel de agar a pH ácido. No obstante, en la práctica clínica pueden diferenciarse fácilmente, ya que la HbD presenta una solubilidad normal. Desde el punto de vista clínico, la forma homocigota de HbD o enfermedad HbDD se caracteriza por una anemia hemolítica y esplenomegalia moderadas. El VCM es normal excepto que se asocie a un gen β -talasemia (microcitosis y aumento de HbA₂). El diagnóstico se realiza mediante electroforesis, que muestra el 95% de HbD y trazas de HbA. Las fracciones de HbF y HbA₂ son normales. La asociación de HbD Punjab y HbS puede dar un cuadro clínico de anemia falciforme moderada. La HbDD Punjab es la forma más frecuente de HbD, y desde el continente africano se ha distribuido ampliamente por otras poblaciones del planeta.

La HbE ($\beta26\text{ Glu} \rightarrow \text{Lys}$) también es una hemoglobinopatía muy frecuente, y se halla ampliamente distribuida por muchas áreas de la geografía mundial aunque, especialmente, en las del sudeste asiático. La prevalencia de esta hemoglobinopatía se atribuye a su fenotipo talasémico, ya que persiste de forma específica en las regiones con paludismo endémico, presente o pasado. Desde el punto de vista molecular la mutación que da lugar a la HbE activa una región crítica del DNA que, al competir con la región normal, disminuye la síntesis de RNAm y con ello la de cadena β (genotipo talasémico). Clínicamente, la HbE en su forma homocigota (HbEE) cursa con intensa microcitosis, hipocromía y codocitosis, y muy poca anemia, por lo que es indistinguible de un síndrome talasémico. Su diagnóstico exige la práctica de una electroforesis a pH alcalino, que muestra una fracción hemoglobínica anómala de migración algo más rápida que la HbC. Otra característica diferencial de la HbE es su inestabilidad molecular cuando se somete a agentes oxidantes. La asociación de HbE y β -talasemia puede dar lugar a un cuadro clínico de talasemia mayor. Finalmente, en su forma heterocigota (HbAE), esta hemoglobinopatía es clínicamente asintomática, aunque puede cursar con microcitosis, moderada poliglobulía y presencia de abundantes codocitos circulantes. La electroforesis de hemoglobinas a pH alcalino revela una fracción de, aproximadamente, el 30-35% de HbE, junto con las restantes fracciones normales de hemoglobina.

HEMOGLOBINOPATÍAS INESTABLES

Las hemoglobinas inestables obedecen a sustituciones de aminoácidos en lugares críticos de la molécula que, al disminuir su solubilidad, facilitan la formación de complejos de hemoglobina precipitada y desnaturalizada que reciben el nombre de cuerpos de Heinz. Los cuerpos de Heinz nunca se observan mediante la coloración convencional de May-Grünwald-Giemsa (MGG) sino que requieren la previa incubación de los eritrocitos con un colorante «vital» como por ejemplo azul de cresilo brillante o azul de metileno nuevo, habitualmente empleados en la tinción de reticulocitos. Hasta la actualidad, se han descrito más de 150 hemoglobinas inestables diferentes, la mayoría de las cuales van acompañadas de hemólisis crónica, casi siempre favorecida por la presencia de infecciones intercurrentes o la ingesta de ciertos medicamentos oxidantes¹³. Por ello, estas hemoglobinopatías constituyen, junto al déficit de G6PD y algunas formas de hemólisis inmune por ingesta de fármacos, una causa de las llamadas «anemias hemolíticas medicamentosas». El patrón hereditario de las hemoglobinas inestables es autosómico dominante, por lo que la enfermedad se manifiesta en estado heterocigoto, y sus formas homocigotas probablemente son incompatibles con la vida. Cabe destacar que dentro del grupo de hemoglobinas inestables se ha descrito una mayor frecuencia de mutaciones espontáneas.

La hemoglobinopatía inestable más frecuente y primariamente descrita es la Hb Köln, ampliamente distribuida por toda la geografía mundial, con especial incidencia

en España. Le siguen en frecuencia la Hb Hammersmith, Hb Génova y Hb Zurich. La expresividad clínica de estas diferentes hemoglobinas inestables es variable, siendo la más grave la Hb Hammersmith y la más leve la Hb Zurich que, prácticamente, es asintomática.

Mecanismo molecular y fisiopatología

La inestabilidad molecular en este tipo de variantes puede ser debida a diferentes clases de mutaciones en lugares críticos de la molécula: a) sustituciones aminoacídicas en la cavidad del grupo hemo (Hbs Hammersmith, Köln); b) mutaciones que afectan a la estructura secundaria de la cadena globínica (Hbs Duarte, Santa Ana, Madrid, Génova); c) sustituciones de un residuo apolar interno por otro polar, alterando la estructura terciaria (Hbs Bristol, Volga), y d) mutaciones que alteran las superficies de contacto α/β provocando una disociación de las cadenas globínicas (Hbs Philly, Tacoma, Khartoum). Los tipos de mutaciones que pueden dar lugar a hemoglobinopatías inestables se representan en la tabla 9.3. En la mayoría de los casos, el resultado de estas alteraciones es la precipitación de la Hb con la formación de cuerpos de inclusión intraeritrocitarios o cuerpos de Heinz.

Los cuerpos de Heinz, junto con la alteración morfológica que producen, disminuyen la deformabilidad eritrocitaria y constituyen la principal causa de hemólisis. Sin embargo, el bazo tiende a eliminarlos mediante un proceso llamado *pitting*, el cual, aunque forma parte de su función normal, cuando los cuerpos de inclusión son muy numerosos o excesivamente grandes, producen una lesión irreversible de la membrana eritrocitaria, eliminándose así rápidamente los eritrocitos de la circulación. La formación de cuerpos de Heinz se inicia con la oxidación de hierro hemínico y la formación de metahemoglobina, fenómeno que va acompañado de la liberación del radical superóxido (O_2^-). Según la mutación y después de la formación de metahemoglobina, la formación de cuerpos de Heinz puede hacerse por dos mecanismos diferentes¹³: a) disociación de las subunidades

hemoglobínicas, seguida de desheminización y precipitación de la globina, y b) formación de hemicromos o moléculas de metahemoglobina en las que la quinta y la sexta valencia de coordinación del ion férrico se hallan unidas a la cadena de globina (fig. 9.7).

Manifestaciones clínicas

Las hemoglobinas inestables se transmiten hereditariamente con carácter autosómico dominante, y cursan con un cuadro de anemia hemolítica, generalmente crónica y de intensidad variable. El grado de hemólisis depende del tipo de mutación, y su efecto sobre la estabilidad hemoglobínica puede verse agudizado por factores diversos, como la ingesta de ciertos medicamentos oxidantes o la coexistencia de infecciones intercurrentes. La hemoglobina inestable más frecuente es la Hb Köln, que cursa con anemia hemolítica crónica, casi siempre de poca intensidad. En otros casos, la hemólisis puede ser más intensa (Hb Hammersmith) o ir acompañada de diseritropoyesis (Hb Indianápolis). Algunas hemoglobinopatías cuya manifestación clínica principal es la cianosis (HbM Saskatoon, HbM Hyde Park, HbM Boston) o la poliglobulia (HbM Bethesda) también pueden ir acompañadas de cierto grado de inestabilidad molecular y hemólisis crónica, casi siempre bien compensada. Se han descrito muchos casos de hemoglobinopatías inestables asociadas al fenotipo de α -talasemia (Hb Suan Dok, Hb Petah Tikva, Hb Fort Worth, Hb Ann Arbor, Hb Quong Sze) que, principalmente, obedecen a mutaciones que afectan el tercer exón y producen un fenotipo más grave que el clásico de una α -talasemia heterocigota. Cuando la hemoglobinopatía inestable se asocia a una β -talasemia (HbE, Hb Knossos, Hb Indianápolis, Hb Houston, Hb Manhattan) el cuadro clínico suele ser el de una talasemia intermedia.

La intensidad del cuadro clínico depende de varios factores: a) grado de inestabilidad; b) tendencia a formar meta-Hb, y c) afinidad por el oxígeno. Son relativamente frecuentes las crisis de eritroblastopenia por infección del parvovirus humano B19.

TABLA 9.3

Tipos de mutaciones que pueden ser causa de inestabilidad de la hemoglobina (hemoglobinas inestables)

Mutación	Consecuencia	Ejemplos
1- Mutaciones en la cavidad del hemo	Pérdida del grupo hemo	Hb Hammersmith Hb Köln
2- Sustitución de residuos internos con diferente grado de polaridad	Alteración estructural	Hb Bristol Hb Volga
3- Mutaciones de la hélice α	Alteración conformacional	Hb Duarte Hb Santa Ana Hb Madrid Hb Génova
4- Alteraciones en las zonas de contacto $\alpha_1\beta_1$	Disociación de las cadenas de globina	Hb Philly Hb Tacoma Hb Khartoum

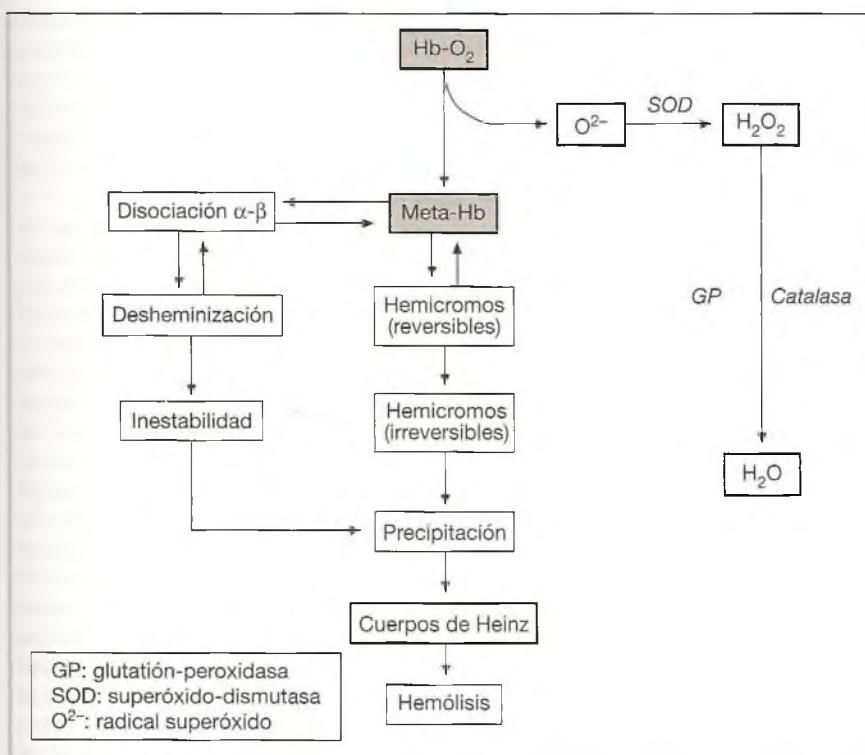


Figura 9.7. Mecanismo de formación de cuerpos de Heinz en las hemoglobinopatías inestables. Para la explicación, véase el texto.

Diagnóstico

El diagnóstico de las hemoglobinopatías inestables puede realizarse mediante las siguientes pruebas^{39,40}:

1. Demostración de formación de cuerpos de Heinz espontáneos. Los cuerpos de Heinz intraeritrocitarios se ponen de manifiesto mediante tinción vital (azul de cresilo brillante o violeta de metilo) de la sangre periférica. Debe señalarse que ello sólo es evidente cuando el paciente ha sido esplenectomizado debido a la desaparición del fenómeno *pitting*. En pacientes no esplenectomizados, puede inducirse la formación de cuerpos de Heinz mediante incubación de los eritrocitos a 37 °C durante 24 horas.
2. Prueba de estabilidad al calor (termoestabilidad) de la hemoglobina. Consiste en incubar a 50 °C una solución amortiguada (a pH constante) de hemoglobina durante 2 horas. La positividad de la prueba viene dada por la aparición, poco después de iniciada la incubación, de un precipitado blanco, en general muy visible.
3. Prueba de estabilidad química mediante incubación del hemolizado con solución de alcohol isopropílico a 37 °C durante 30 minutos.
4. Electroforesis de hemoglobinas. Dado que las hemoglobinas inestables no suelen ir acompañadas de alteraciones en la carga eléctrica, su migración electroforética suele ser normal. No obstante, en algunas de ellas (Hb Köln), la disociación espontánea de la molécula durante el recorrido electroforético suele ponerse de manifiesto por la aparición de un arrastre detrás de la HbA, con aparición de varias fracciones difusas o mal delimitadas.

Tratamiento

La mayoría de individuos afectados de hemoglobinopatía inestable no requieren tratamiento y, al igual que en el déficit de G6PD, debe evitarse en lo posible el contacto con medicamentos oxidantes. En caso de anemia hemolítica intensa puede ensayarse la esplenectomía, con lo que puede conseguirse una mejoría del cuadro clínico en, aproximadamente, el 50% de casos.

HEMOGLOBINOPATÍAS CON ALTERACIÓN DE LA AFINIDAD POR EL OXÍGENO

Al igual que otras hemoglobinopatías estructurales, las variantes con alteración de la afinidad por el oxígeno presentan una herencia autosómica dominante, aunque se han descrito bastantes mutaciones espontáneas¹³. Debido a ello, sólo se observan heterocigotos, porque el estado homocigoto es incompatible con la vida. Los individuos afectados son, por tanto, heterocigotos, y sus eritrocitos contienen una cantidad aproximadamente igual de hemoglobinas A y patológica. Hasta la actualidad se han descrito unas 118 variantes de hemoglobina que muestran una alteración de su afinidad por el oxígeno.

Mecanismo molecular y fisiopatología

El defecto molecular de estas hemoglobinopatías reside en la sustitución de un aminoácido en el punto de contacto entre las cadenas alfa y beta, lugares críticos para el cambio conformacional, imprescindible para la fijación reversible del oxígeno molecular y el mantenimiento del equilibrio oxi-Hb/desoxi-Hb. Entre ellos destacan las siguientes mutaciones: a) las que afectan a

las superficies de contacto $\alpha_1\text{-}\beta_2$; b) las situadas en la cavidad del hemo y desestabilización y pérdida del mismo; c) las situadas en la región C-terminal de la cadena β de globina, y d) las situadas en la cavidad central y que alteran la unión del 2,3-DPG a la cadena beta. Según el tipo de mutación, estas alteraciones estabilizan una de las dos conformaciones, y la hemoglobina presenta una mayor o menor afinidad por el oxígeno. Del conjunto de hemoglobinopatías con alteración de la afinidad por el oxígeno unas 80 presentan un aumento de la afinidad, y otras 35, una disminución. Junto con ello, muchas hemoglobinopatías de ambos grupos son también inestables.

Manifestaciones clínicas

Las hemoglobinopatías con aumento de la afinidad por el oxígeno son las más frecuentes, y suelen acompañarse de eritrocitosis (poliglobulía). Por ello, ante un paciente joven con eritrocitosis o poliglobulía aislada debe sospecharse, en primer lugar, una hemoglobinopatía con aumento de la afinidad por el oxígeno (poliglobulía familiar). Por el contrario, en un individuo adulto, especialmente si existe esplenomegalia, debe establecerse en primer lugar el diagnóstico diferencial con la policitemia vera (PV). La eritrocitosis obedece a un aumento de la eritropoyesis que se produce como consecuencia de la incapacidad de la hemoglobina para liberar oxígeno en los tejidos (hipoxia). Ello tiene como consecuencia un aumento de eritropoyetina (Epo) y, por tanto, un estímulo de la eritropoyesis (poliglobulía compensadora). En la PV la Epo se halla característicamente disminuida, lo que constituye un criterio importante para el diagnóstico diferencial. La intensidad de la eritrocitosis es variable, y a veces es tan ligera que no va acompañada de un aumento real de la masa eritrocitaria (eritrocitosis relativa). En general, la eritrocitosis nunca es tan intensa como la que se observa en la PV, excepto en el caso de Hb Malmö, en la que es muy intensa y va acompañada de un síndrome de hiperviscosidad sanguínea. Otros ejemplos de hemoglobinopatías inestables son la Hb Chesapeake y la Hb Capetown.

Las hemoglobinopatías con disminución de la afinidad por el oxígeno son mucho menos frecuentes, y suelen asociarse a anemia y cianosis. Dado que muchas de estas hemoglobinopatías son también inestables, la mayoría de las veces el cuadro anémico obedece a la hemólisis crónica. La cianosis obedece al exceso de hemoglobina desoxigenada (color azul) presente en los territorios capilares de la piel y de las mucosas¹³. Su presencia, de forma aislada, debe hacer pensar en la existencia de este tipo de hemoglobinopatías, aunque su diagnóstico ha de basarse siempre en los antecedentes clínicos, la electroforesis de hemoglobinas y la medida de la afinidad de la Hb por el O_2 , o P_{50} . Son ejemplos de hemoglobinopatías con disminución de la afinidad por el oxígeno la Hb Seattle, la Hb Vancouver y la Hb Mobile.

Diagnóstico

Dentro de las causas de eritrocitosis, las hemoglobinopatías ocupan, en realidad, un lugar muy poco impor-

tante, por lo que ante un paciente con aumento de la masa eritrocitaria deben descartarse otras posibles causas de la misma, antes de establecer el diagnóstico. Con todo, la edad del paciente (joven), la ausencia de esplenomegalia, la ausencia de leucocitosis y trombocitosis y, sobre todo, el carácter familiar, son datos clínicos que sugieren la existencia de una hemoglobinopatía¹³.

La confirmación diagnóstica exige la realización de varios exámenes complementarios, entre los que destacan el estudio electroforético de hemoglobinas y el análisis de su afinidad por el oxígeno. El estudio electroforético convencional (acetato de celulosa a pH alcalino) tiene una utilidad limitada, por cuanto sólo un pequeño número de estas hemoglobinopatías presentan una movilidad distinta a la de la HbA. Algunas variantes, sin embargo, pueden detectarse si se emplean diferentes soportes o valores de pH (electroforesis sobre agar a pH 6,0 o electrofocalización). El resto, presenta una movilidad electroforética normal. En cualquier caso, el diagnóstico definitivo exige poner de manifiesto la alteración funcional mediante el estudio de la afinidad de la hemoglobina por el oxígeno (determinación de la P_{50}). En una persona sana, el valor de la P_{50} obtenido a partir de sangre total (37°C y a pH 7,4) es de, aproximadamente, 25 mmHg. Una variación de 3 mm por encima o por debajo de este valor ya debe considerarse patológica. Al realizar el estudio de la P_{50} debe tenerse siempre presente la influencia del 2,3-difosfoglicerato (2,3-DPG), que también debe ser cuantificado. Así, ante una alteración de la P_{50} en sangre total, hay que repetir la determinación en el hemolizado, totalmente desprovisto de 2,3-DPG, y si persiste la alteración, es muy probable que se trate de una hemoglobinopatía, cuya naturaleza habrá que identificar mediante otros procedimientos de estudio bioquímico o molecular.

Tratamiento

El carácter benigno de estas hemoglobinopatías conlleva el que, en la gran mayoría de casos, no sea necesario ningún tipo de tratamiento. Éste sólo debe plantearse cuando la intensa poliglobulía se asocia con un síndrome de hiperviscosidad, en cuyo caso será necesario recurrir a la práctica de sangrías.

HEMOGLOBINOPATÍAS M

La mutación por HbM puede afectar a las cadenas α o β , y se caracteriza por preservar el hierro de dos de los cuatro grupos hemo en estado férrico (Fe^{+++}) permanente. Debido a ello, estas hemoglobinas presentan una oxigenación parcial, y parte importante de ellas se halla siempre en estado desoxigenado. Por ello, a este tipo de metahemoglobinas se las conoce como HbM, y se clasifican según las diferentes áreas geográficas en las que se han descrito (tabla 9.1). Cuando la concentración de hemoglobina desoxigenada supera los 50 g/L la sangre adquiere una tonalidad azulada que se refleja en la piel y las mucosas dando lugar a cianosis¹³.

Las hemoglobinas M se heredan con carácter autosómico dominante, y debido a ello, los portadores hetero-

cigotos presentan cianosis sin ningún otro trastorno, excepto en aquellos casos en los que la HbM es, además, inestable, y en los que a la cianosis se sobreañade un cuadro de hemólisis crónica (HbM Saskatoon y HbM Hyde Park). La cianosis es irreversible, y no cede con la administración de sustancias reductoras (ácido ascórbico o azul de metileno). Con frecuencia, se observa también una moderada eritrocitosis que aparece como consecuencia de la hipoxia crónica.

El diagnóstico diferencial de las hemoglobinopatías M debe establecerse con otras causas de metahemoglobinemía congénita como, por ejemplo, el déficit de NADH-diaforasa y la persistencia del orificio interauricular (niños azules), o adquirida, como la ingestión de sustancias tóxicas (metahemoglobinemía tóxica) o insuficiencia cardiorrespiratoria crónica. El diagnóstico diferencial con el déficit de NADH-diaforasa (citocromo b₅ reductasa) viene ya facilitado por el carácter autosómico recesivo de este último, así como por la desaparición de la cianosis con la administración de sustancias reductoras. La metahemoglobinemía tóxica aparece en individuos sanos expuestos a ciertos medicamentos oxidantes o a determinados compuestos del medio ambiente con intensa actividad oxidante. En estos individuos con defensas antioxidantes normales la intensidad del agente tóxico supera su capacidad de defensa y produce metahemoglobinemía y cianosis. El característico color marrón de la metahemoglobinemía facilita el diagnóstico de la intoxicación en la misma cabecera del enfermo al realizar la extracción sanguínea.

Diagnóstico

La HbM (metahemoglobina) se diferencia de la HbA mediante electroforesis a pH neutro, ya que en estas condiciones presenta menor movilidad. La confirmación diagnóstica exige la demostración del origen de la metahemoglobinemía, por lo que deben analizarse sus características espectroscópicas^{40,43}. Así, la HbM no suele ir acompañada de metahemoglobinemía superior al 25%, y sus características espectroscópicas son diferentes a las de la metahemoglobina A normal (fig. 9.8).

Dado que la metahemoglobina es un pigmento oscuro, los pacientes con metahemoglobinemía tóxica muy intensa tienen la sangre de color achocolatado. Esta característica permite hacer ya el diagnóstico del caso en la misma cabecera del enfermo, después de realizar la extracción sanguínea.

Tratamiento

A diferencia de la cianosis secundaria a enzimopatía (déficit de NADH-diaforasa), que desaparece con la administración de azul de metileno u otros agentes reductores, la debida a HbM carece de tratamiento.

PREVENCIÓN Y DIAGNÓSTICO PRENATAL DE LAS HEMOGLOBINOPATÍAS Y TALASEMIAS

La prevención y el diagnóstico prenatal de las hemoglobinopatías que generen un compromiso grave para la vida de los enfermos constituye una práctica común en

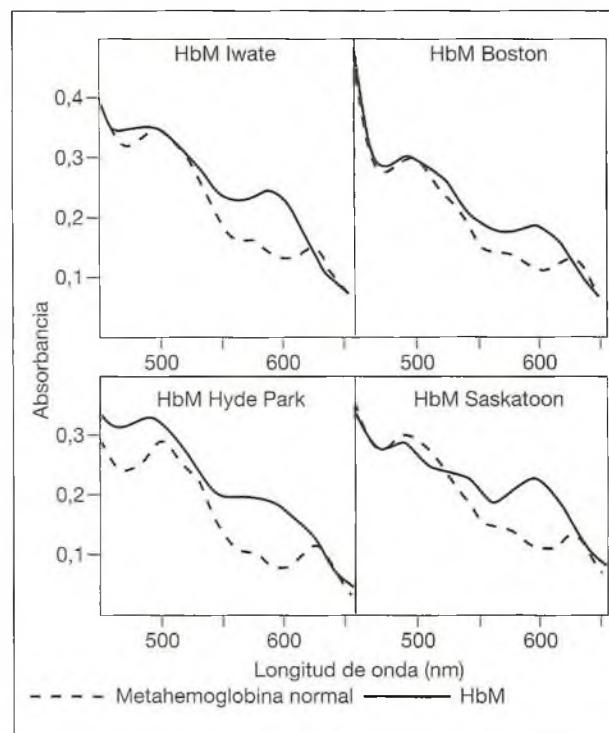


Figura 9.8. Características espectroscópicas de la HbM.

aquellos países en los que su frecuencia las convierte en un problema sanitario para la población. La prevención debe procurarse, en primer lugar, mediante el consejo genético de los portadores heterocigotos. En caso de talasemia, los portadores heterocigotos pueden identificarse fácilmente (microcitosis) mediante un examen hematológico rutinario o realizado con motivo de un chequeo. Asimismo, en muchos países existen programas oficiales para el cribado neonatal de ciertas hemoglobinopatías de impacto sanitario como, por ejemplo, la hemoglobinopatía S causante de la drepanocitosis. Los procedimientos que se emplean para realizar el cribado neonatal son diversos, aunque los más utilizados son la electroforesis de hemoglobinas en soportes estandarizados y la cromatografía de alta resolución (HPLC). Las características de algunos de estos equipos ya han sido comentadas en otro apartado de este capítulo, y basta con mencionar solamente que muchos de ellos permiten también determinar la hemoglobina glicada (HbA_{1c}). Otro procedimiento algo más engorroso pero de gran sensibilidad para el diagnóstico prenatal de las talasemias (β -talasemias y α -talasemias) es la síntesis *in vitro* de cadenas globínicas, aunque para ello debe partirse necesariamente de sangre fetal obtenida por fetoscopia. El avance tecnológico experimentado por la biología molecular hace posible identificar el genotipo de la mayoría de talasemias con procedimientos muy simples y asequibles a un elevado número de laboratorios. Existen firmas comerciales que han desarrollado *kits* con los que con muy poca muestra pueden analizarse en muy poco tiempo un elevado número de posibles mutaciones^{44,45}. Si mediante el consejo genético no se logra evitar el embarazo, el procedimiento preventivo de elec-

ción en situaciones de alto riesgo es la práctica de un diagnóstico prenatal mediante análisis de DNA fetal obtenido a las 12-18 semanas de vida (amniocentesis o biopsia coriónica). Mediante biopsia coriónica pueden obtenerse mayores cantidades de DNA que con la amniocentesis; consiste en la inserción de una cánula flexible en el útero a través del cuello, y en la obtención de una muestra de vellosidades coriónicas cuyo estudio puede realizarse directamente sin necesidad de cultivo previo (fig. 9.9). El diagnóstico prenatal de hemoglobinopatías está facilitado por el extraordinario progreso experimentado por la biología molecular en los últimos años, lo que ha permitido ofrecer diferentes metodologías de gran sensibilidad y especificidad⁴⁶.

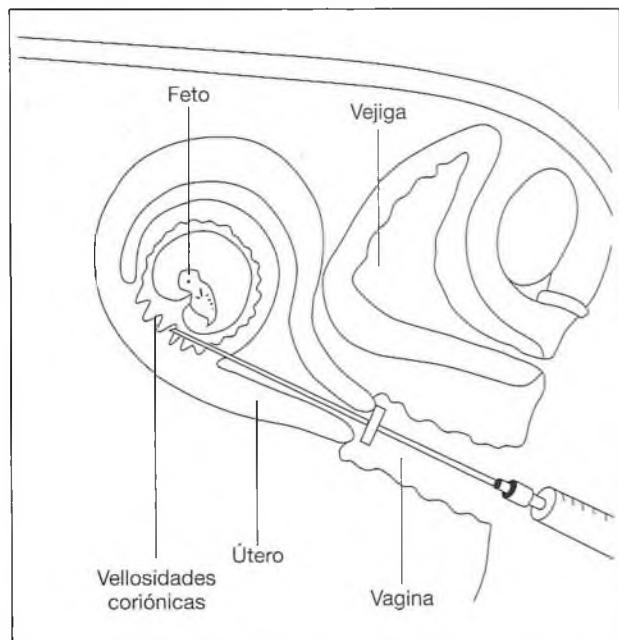


Figura 9.9. Método para el diagnóstico prenatal de hemoglobinopatías mediante análisis del DNA obtenido de las vellosidades coriónicas.

BIBLIOGRAFÍA

- Weatherall DJ, Clegg JB, Higgs DR, Wood WG. The Hemoglobinopathies. En: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS et al (eds.). *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Diseases*, 8.^a ed. Edinburgh: Elsevier, 2000.
- Lukens JN. The abnormal hemoglobins: general principles. En: Greer JP, Glader BE, Paraskevas F, Rodgers GM, Foerster J, Lukens JN (eds.). *Wintrobe's Clinical Hematology*, 11.^a ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2003.
- Herrick JB. Peculiar elongated and sickle-shaped red blood corpuscles in a case of severe anemia. *Arch Intern Med* 1910; 6:517-521.
- Pauling L, Itano HA, Singer SJ, Wells IC. Sickle-cell anemia, a molecular disease. *Science* 1949; 110:543-548.
- Carver MF, Huisman THJ. International Hemoglobin Information Center Variant List. *Hemoglobin* 1966; 20:213-225.
- Cantalejo MA. Registro Español de Hemoglobinopatías. Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. cantalejo.hgugm@salud.madrid.org.
- Saunthararajah Y, Vichinsky P, Embury AH. Sickle-cell disease. En: Hoffman R, Benz EB, Shattil S et al (eds.). *Hematology Basic Principles and Practice*, 4.^a ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2005; 605-644.
- Serjeant GR. The geography of sickle cell disease. Opportunities for understanding its diversity. *Ann Saudi Med* 1994; 14:237-246.
- Embrey SH, Hebbel RP, Mohandas N, Steinberg MH. *Sickle Cell Disease: Basic Principles and Clinical Practice*. Raven Press, 1994.
- Serjeant GR. *Sickle Cell Disease*, 2.^a ed. Oxford University Press, 1992.
- Hebbel RP. Beyond Hemoglobin Polymerization: The Red Blood Cell and Sickle Disease Pathophysiology. *Blood* 1991; 2:214-237.
- Mankad VN, Moore RB. *Sickle Cell Disease: Pathophysiology, Diagnosis and Management*. Westport: CT Praeger, 1992.
- Beutler E. The Sickle Cell Diseases and related Disorders. En: Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ, Seligsohn U (eds.). *Williams Hematology*, 6.^a ed. New York: McGraw Hill, 2001; 581-606.
- Miller ST, Sleeper LA, Pegelow CH, Enos LE, Wang WC, Weiner SJ. Predictors of adverse outcomes in children with sickle cell disease. *New Engl J Med* 2000; 342:83-89.
- Platt OS, Brambilla DJ, Rosse W et al. Mortality in sickle cell disease. Life expectancy and risk factors for early death. *New Engl J Med* 1994; 330:1639-1644.
- Platt OS, Dover GJ. Sickle Cell disease. En: Nathan DG, Oski FA (eds.). *Hematology of Infancy and Childhood*, 4.^a ed. Philadelphia: WB Saunders, 1994; 732-782.
- Yaster M, Lost-Byerly S, Maxwell LG. The management of pain in sickle cell disease. *Pediatr Clin North Am* 2000; 47:699-710.
- Franklin Bunn H. Mechanisms of Disease. Pathogenesis and Treatment of Sickle Cell Disease. *N Engl J Med* 1997; 337:762-769.
- Lane PA. Sickle Cell Disease. *Pediatr Clin North Am* 1996; 43:639-664.
- Vichinsky EP, Neumayr LD, Earles AN et al. Causes and outcomes of the acute chest syndrome in sickle cell disease. *New Engl J Med* 2000; 342:1855-1865.
- Powers D, Weidman JA, Odom-Maryon T. Sickle cell chronic disease: prior morbidity and the risk of pulmonary failure. *Medicine (Baltimore)* 1988; 67:66-76.
- Wang WC, Lanston JW, Steen G et al. Abnormalities of the central nervous system in very young children with sickle cell anemia. *J Pediatr* 1998; 132:994-998.
- Allon M. Renal abnormalities in sickle cell disease. *Arch Intern Med* 1990; 150:501-505.
- Dover GJ, Smith KD, Chang YC 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.
- Nagel RL, Erlingsson S, Fabry ME et al. The Senegal DNA haplotype is associated with the amelioration of anemia in Africa-American sickle cell anemia patients. *Blood* 1991; 77:1371-1375.
- Sociedad Española de Hematología Pediátrica (ESHOP). Protocolo de anemia de células falciformes o drepanocitosis. DREP-2002-SEHP. mcantalejo.hgugm@salud.madrid.org.
- Steinberg MH. Management of Sickle Cell Disease. *New Engl J Med* 1999; 340:1021-1030.
- Adams-Graves P, Kedar A, Koshy M et al. RheothRx (poloxamer 188) injection for the acute painful episode of sickle cell disease: a pilot study. *Blood* 1997; 90:2041-2046.
- Lori A Styles, and Elliot P. Vichinsky. New Therapies and approaches to transfusion in sickle cell disease in children. *Hematology and Oncology Current Opinion in Pediatrics* 1997; 9:41-45.