

# Enfermedad por Hemoglobina H

## Estudio de una nueva familia

*German F. Sáenz\**

*Jaime Briceño\*\**

*Gerardo Montero\**

*Javier Jiménez\**

*Mario Chaves\**

### RESUMEN

En una niña mestiza costarricense de tres años de edad, con anemia hipocrómica refractaria al tratamiento con hierro, de padre nicaragüense con rasgos orientaloides, y madre costarricense (Guanacaste), con abuelo paterno fenotípicamente asiático, se logró demostrar la presencia de HbH en su hemolizado, y de cuerpos de inclusión eritrocíticos de dicha Hb. Los análisis practicados a la familia ponen en evidencia a una madre portadora de alfa-tal, a un padre como posible portador del gene silencioso del trastorno, a una hermana con hemoglobinograma normal y a otro hermano con la misma condición doble heterocigota de la propositus (Enfermedad por HbH).

### INTRODUCCION

Los síndromes de alfa talasemia (alfa-tal) son el resultado de una serie de mecanismos genéticos complejos en donde la deficiencia de síntesis de cadenas alfa, tanto en la vida fetal como adulta, lleva a un exceso de síntesis de cadenas gama o beta con la producción de Hb Bart (gama 4) y de Hb H (beta 4), respectivamente. La deficiencia de síntesis de cadenas alfa se debe a pérdida de genes estructurales de globina alfa (7,10,14, 19,26,33,37) al menos en la mayoría de las poblaciones del mundo (14,19,21,35), siendo la enfermedad por HbH en éstas el resultado de la delección o pérdida de tres de los cuatro

\*Centro de Investigación en Hemoglobinas Anormales y Trastornos Afines (CIHATA); Cátedra de Hematología, Universidad de Costa Rica, Hospital San Juan de Dios.

\*\*Laboratorio Clínico, Hospital de Villa Neilly Caja Costarricense del Seguro Social.

genes alfa del genoma diploide (10,35).

En 1979, (29) tuvimos la oportunidad de reportar el primer caso de esta forma doble heterocigótica de alfa-tal en nuestro país. Con ocasión de estudiar una nueva familia con el trastorno, hemos considerado oportuno presentar el caso a fin de demostrar de nuevo la existencia de esta patología en nuestro medio.

### MATERIAL Y METODOS

#### Metodología

Los estudios hematológicos de rutina se efectuaron con los métodos convencionales (6). La electroforesis de Hb se llevó a cabo en acetato de celulosa (Titan III, Helena; Super sepraphore, Gelman) y tampón de Tris-EDTA-borato a pH 8.6. La cuantificación de la HbA<sub>2</sub> se realizó tanto por electroforesis-elución (22) como por microcromatografía en columnas con tampón Tris-HCL, pH 8.30 (9). La HbF se cuantificó por el método de Singer y colbs. (32), la termoestabilidad de acuerdo al método de Carrel y Kay (5), y los cuerpos de inclusión de HbH se investigaron con azul cresil brillante luego de una hora de incubación a 37°C (6). La cuantificación aproximada de HbH se hizo en acetato de celulosa (Super-sepraphore) por elución de la fracción luego de una corrida electroforética a 400 voltios y por 20 minutos, en tampón de Tris-EDTA-borato, pH 8.6.

### Estudio familiar

El propositus de tres años es hijo de un padre mestizo nacido en Nicaragua, con rasgos orientales, cuya madre es fenotípicamente también orientaloide. La madre, guanacasteca, señala que su abuelo paterno era de "rasgos físicos chinos".

La niña consultó por primera vez en 1979 en el Hospital de Villa Neilly (C.C.S.S.), por presentar una ligera anemia. No fue sino en agosto de 1980 que se reportó un cuadro hipocrómico refractario al tratamiento convencional, con niveles de Hto de 30% y de Hb de 8.6 g/dl, y una CHCM de 29 g/dl. En esta oportunidad ya se hizo notar "posible talasemia". Luego de varias consultas en 1980, en setiembre de ese año se le dio tratamiento con hierro por vía intramuscular sin que hubiese respuesta en la cifra de Hb. Finalmente fue referida a nuestros laboratorios en enero de 1981 para un estudio detallado de síndrome talasémico. Al examen físico no se anotó ningún hallazgo en especial, llamando la atención el que no se indicara la presencia de esplenomegalia. El hemograma resultó altamente sugestivo para talasemia.

### RESULTADOS

En el cuadro I se indican los hallazgos de laboratorio de la familia estudiada. Se puede observar en el mismo que tanto la propositus (II-1) como su hermano (II-3) presentan un espectro hematológico tipo talasémico, con hipocromía, microcitosis, porquilocitosis y células en diana como cuadro dominante en las alteraciones de la morfología roja, con cuerpos de inclusión de HbH y valores de HbA<sub>2</sub> disminuidos, lo que permitió encuadrar a ambos como poseedores de enfermedad por HbH, condición analíticamente más relevante en la propositus. Una hermana (II-2) no mostró ninguna alteración hematológica, como tampoco el padre (I-1). La madre (I-2), por otra parte, presenta ocasionales cuerpos de inclusión frente a un hemograma en donde se aprecia microcitosis, ligera hipocromía y algunas células en diana, con HbA<sub>2</sub> discretamente disminuida y una fragilidad osmótica (FO) también disminuida.

### DISCUSION

En el estudio que se practicó a esta nueva familia costarricense con enfermedad por HbH, cabe destacar dos hechos importantes.

**Cuadro I**  
**HALLAZGOS HEMATOLOGICOS EN LA FAMILIA ESTUDIADA**

Designación pedigree	Nombre	Edad (años)	Sexo	Hto (%)	Hb (g/dl)	CHCM (g/dl)	Reticulocitos (%)	Cuerpos de Inclusión	Patrón electroforético	HbH (%) (Electrof.)	Hb Fetal (%)	Hb A <sub>2</sub> (%)	Fragilidad Osmótica	Alteraciones morfológica eritrocítica	FeS (ug/dl)
I-1	E.A.M.	27	M	46	14.20	31	2.0	-	AA	-	0.50	2.30	Dism	-	61
I-2	D.Z.	24	F	38	11.20	29.5	3.5	1/2000	AA	-	1.70	2.10	Dism	+	50
II-1	H.A.Z.	3	F	32	8.80	27.5	10	3/100	AH	2	1.60	1.30	Dism	+++	52
II-2	K.A.Z.	4	F	38	12.30	32	2.0	-	AA	-	0.50	2.60	NL	-	152
II-3	F.A.Z.	6	M	34	9.40	27.5	5.0	1/200	AH	T	0.80	1.80	Dism	++	69

T: Trazas; NL: Normal; -: Negativos o no hay.



En primer lugar, la ascendencia oriental de los progenitores que debió hacer sospechar desde un principio la posible etiología talasémica en una pequeña paciente con anemia hipocrómica refractaria al tratamiento con hierro. En segundo término, lo importante que significa que un laboratorio estudie *con cuidado las extensiones que se practican* cuando se está realizando un conteo de reticulocitos, pues ante un cuadro hematológico como el que nos interesa, debe siempre con interés buscarse la presencia de cuerpos de inclusión, los cuales en el caso de la HbH, son patognomónicos de alfa-tal.

La hemoglobina Bart (gama 4) generalmente se asocia en el período neonatal con la presencia de alfa-tal (7,28,35,38). Dicha hemoglobina rápida puede demostrarse sin dificultad en sistemas electroforéticos a pH alcalino, sea en acetato de celulosa como de almidón, y puede corroborarse por su migración anódica a pH 6.8-7.0 en tampón de fosfatos (21), por métodos inmunológicos (13,34) y por electroforesis de globina (30). Wasi et al. (35) en estudios realizados en Tailandia, señalan que las cantidades de esta hemoglobina al nacimiento pueden ser 1-2%, 5-6%, y de 20-40%, correspondiendo respectivamente estos valores a los genotipos de alfa-tal<sub>2</sub> (-, alfa/alfa,alfa); alfa-tal<sub>1</sub> o rasgo (-,-/alfa,alfa), y de alfa-tal<sub>1</sub>/alfa-tal<sub>2</sub> o enfermedad por hemoglobina H (-,-/-, alfa). Obviamente, también por métodos de biosíntesis de globina en sangre de cordón (22) se puede demostrar el desequilibrio sintético entre cadenas alfa y beta, poniéndose en evidencia un incremento del índice de la relación gama-beta/alfa, en los diversos síndromes de alfa-tal. Sofisticados métodos de genética molecular permiten el diagnóstico de síndromes alfa-talasémicos ya en el período prenatal (18,20,24,38).

La HbH fue el primer síndrome de alfa-tal descrito en 1955 (11), en sujetos griegos y luego, en el mismo año, en una familia de ascendencia china residente en los Estados Unidos. Esta enfermedad talasémica es muy frecuente en poblaciones del Sureste de Asia, y con frecuencia relativamente alta en el Medio Oriente y en el área mediterránea, siendo muy rara en el Africa y en raza negra (31) y en otras áreas, en las cuales su hallazgo puede haber sido consecuencia de mezclas raciales. En el área hispanoamericana

los reportes son escasos, habiéndose descrito casos aislados en Jamaica (36), Curazao, Venezuela (2), México (1), Argentina (16), Colombia (11), Perú (17), Brasil (23), Cuba (12) y, en España (27). En la mayoría de estos reportes se han puesto de manifiesto antecedentes raciales orientales o mediterráneos, *incluyendo la presente información. Es interesante señalar que en los casos reportados en Colombia y en México con toda probabilidad se trata de sujetos mestizos, es decir, sin antecedentes raciales de inmigración diferente a la de la colonización.*

El síndrome se caracteriza por una anemia hemolítica crónica de expresividad clínica variable, con niveles de Hb entre 8 y 10 g/dl, con moderada reticulocitosis (5-10%), morfológicamente es de estirpe microcítico hipocrómico, con poquilocitosis y dianocitosis e inclusiones intraeritrocíticas peculiares que se ponen en evidencia con substancias oxidantes débiles, como el azul de cresilo, niveles bajos de HbA<sub>2</sub> y presencia de una hemoglobina anormal (HbH) de gran movilidad electroforética en una proporción que oscila entre el 2 y el 30% del total, y que en muchos casos va acompañada de cantidades pequeñas de Hb Bart (4,25,35). Generalmente se acompaña de esplenomegalia evidente no siendo infrecuente la hepatomegalia (35).

La gran experiencia de los tailandeses con enfermedades alfa talasémicos nos permiten señalar los hallazgos clínicos en los recién nacidos con enfermedad por HbH, en los cuales no se detecta anormalidad alguna, pero aunque los niveles de Hb sean cercanos a lo normal, la alteración de la morfología eritrocítica sí es evidente, y característicamente se encuentra cerca de un 25% de Hb Bart y trazas de HbH. Con el tiempo, la HbH reemplaza gradualmente a la Bart, apareciendo usualmente en el primer año de vida el cuadro típico de la enfermedad (4).

Los análisis de la familia en estudio permiten señalar al padre como factible poseedor del genotipo de alfa-tal<sub>2</sub> (-,alfa/alfa,alfa), o portador silencioso de alfa-tal (alfa-tal<sub>2</sub>). El diagnóstico de este genotipo es imposible realizarlo con los métodos hematológicos de rutina, pues no se presenta anemia, alteraciones eritrocíticas, cuerpos de inclusión, fracciones hemoglobínicas anormales (HbH, Hb Bart), ni niveles alterados

de las HbS A<sub>2</sub> y F. Esta condición puede sugerirse por estudios de síntesis de globina, en donde usualmente la relación biosintética alfa/beta es de aproximadamente 0.75 (3). Por otro lado, la anormalidad genética se hace evidente, cuando tiene hijos con un portador severo de alfa-tal (rasgo o variedad alfa-tal<sub>1</sub>), presentándose en la descendencia uno o más hijos con enfermedad por HbH. Tal sería el caso de los hijos II-1 y II-3. La madre, resulta ser portadora de alfa-tal, es decir de alfa-tal<sub>1</sub>, con un muy probable genotipo —, —/alfa, alfa, dada su extracción oriental (10). En los portadores de alfa-tal<sub>1</sub> el cuadro es microcítico hipocrómico —con dianocitosis—, poiquilocítico, con normofe-remia, patrón electroforético usualmente normal o con ligeras trazas de HbH, ocasionales cuerpos de inclusión y una F.O. disminuida. Los portadores de este tipo de alfa-tal serán obligadamente padres de niños hidrópicos con 100% de Hb Bart, o padres de pacientes con enfermedad por HbH, como resulta ser el caso de la propositus y su hermano mayor, en donde el diagnóstico de su doble condición heterocigótica de alfa-tal se hizo con base en los hallazgos citológico y electroforético de la HbH.

#### BIBLIOGRAFIA

- 1.— Angles, E., Robles, I., Ferrer, V., González, R., & Ortiz, J.F. Talasemia alfa (hemoglobinopatía H) en una familia mestiza mexicana. *Sangre* 22:366, 1977.
- 2.— Arends, T.: Abnormal hemoglobins, G-6-PD deficiency and thalassemia in Latin America. *New Zealand J. Med. (Supplement)*, 65:412, 1966.
- 3.— Bellevue, R., Dosik, H. & Rieder, R.F. Alpha thalassemia in American Blacks: a study of a Family With Five Cases of Haemoglobin H disease. *Brit. J. Haemat.*, 41:193, 1979.
- 4.— Bunn, H.F., Forget, B.G., & Ranney, H.M. Hemoglobinopathies, vol. XII (in the series: Major problems in Internal Medicine). W.B. Saunders Co., 1977.
- 5.— Carrell, R.W., Kay, R.A. Simple method for the detection on unstable haemoglobins. *Brit. J. Haemat.*, 23:615, 1972.
- 6.— Dacie, J.V., & Lewis, S.M. Hematología práctica, 2a. ed., VI+ 536 pp. Ediciones Toray, S.A. Barcelona, 1970.
- 7.— Dozy, A.M., Kan, Y.W., Koenig, H.M. & Embury, S.H. Alpha globin organization in black precludes the severe form of alpha-thalassemia *Clin. Res.*, 27:507 A (Abstr.), 1979.
- 8.— Echavarría, A., Molina, Consuelo, & Marina, A. Enfermedad por Hemoglobina H. Tercera forma de alfa-talasemia encontrada en Colombia. *Sangre* 21:43, 1976.
- 9.— Efremov, G.D., Huisman, T.H.J., Bowman, K., Wrightstone, R.N. Micromatography of hemoglobins II. A rapid method for the determination of hemoglobin A<sub>2</sub>. *J. Lab. Clin. Med.*, 83:657, 1974.
- 10.— Embury, S.H., Lebo, R.V., Dozy, A.M. & Kan, Y.W. Organization of the alfa-globin genes in the chinese alfa-thalassaemia Syndromes. *J. Clin. Invest.*, 63:1307.
- 11.— Gouffas, A., Fessas, P., Tservrenis, H., & Xefteri, E. Description d'une nouvelle variété d'anémie hemolytique congénitales; étude hématologique, électroforetique et génétique. *Sang.* 26:911, 1955.
- 12.— Hernández, P., Vidal, H., & Colombo, B. Enfermedad por hemoglobina H. Estudio de una familia *Rev. Cub. Méd.* 14:191, 1975.
- 13.— Hicks, E.J., Loh, W.P., Hamilton, R. & Horton, R. Cord-Blood screening considerations: Identifications of heterozygous conditions hemoglobin Bart's and other hemoglobinopathies. *Clin. Chem.* 23:1551, 1977.
- 14.— Higgs, D.R., Presley, L., Clegg, J.B., Weatherall, D.J. & Serjeant, G.R. Alfa thalassemia in Black populations. *John Hopkins Med. J.*, 146:300, 1980.
- 15.— Huehns, E.R., Flynn, F.V., Butler, E.A. The occurrence of haemoglobin Bart's in conjunction with and haemoglobin H. *Brit. J. Haemat.*, 6:388, 1960.
- 16.— Iparraguirre, B., Peñalver, J.A., Bonnesana, A.N.C., Bresti, P.M., Carmena, A., Cavagnaro, A., Osatinsky, R., & Bomchil, G. Observaciones sobre hemoglobinopatías en la Argentina. *Proc. Congr. Int. Soc. Hemat. México*, 1962.
- 17.— Jeri, A., Rojas, M., & Castillo, J. Enfermedad por hemoglobina H. Estudio de dos familias peruanas. *Sangre*. 21:67, 1976.
- 18.— Kan, Y.W., Golbus, M.S., & Dozy, A.M. Prenatal diagnosis of alpha-thalassemia: Clinical application of molecular hybridization. *N. Engl. J. Med.* 295:1165, 1975.

- 19.— Kan, Y.N., Dozy, R., Trecartin, R. & Todd, D. Identification of a nondeletion defect in alfa-thalassaemia. *N. Engl. J. Med.*, 297:1081, 1977.
- 20.— Koenig, H.M., Vedvick, T.S., Dozy, A.M., Golbus, H.S., & Kan, Y.W. Prenatal diagnosis of haemoglobin H disease. *Pediatrics*, 92: 278, 1978.
- 21.— Lehmann, H. & Huntsman, R.G. *Man's Haemoglobins*. 417-418 p. North-Holland Publishing Co., 1974.
- 22.— Marengo-Rowe, A.J. Rapid electrophoresis and quantitation of hemoglobins on cellulose acetate, *J.Clin. Path.* 18:790, 1965.
- 23.— Moreira, J., Andrade, A., De Campos, A.L., Nascimento, R.M., Da Cunha, A., & Salgado, A. Investigacao em uma familia com alfa talassemia. *Rev. Bras. Pesquisas, Méd. e Biol.*, 6:349, 1973.
- 24.— Nathan, D.G. Antenatal diagnosis of hemoglobinopathies: An exquisite molecular brew. *N. Engl. J. Med.* 295: 1196, 1976.
- 25.— Necheles, T.F., Cates, M., Sheehan, R.G., & Meyer, H.J. Hemoglobin H Disease. A family study. *Blood*, 28:501, 1966.
- 26.— Ottolenghi, S., Lanyon, W.G., Paul, J., Williamson, R., Weatherall, D.J., Cleeg, J.B., Prichard, J., Pootrakul, S., Bonn, W.H. The severe form of alpha-thalassaemia is caused by a haemoglobin gene deletion. *Nature*, 251:289, 1974.
- 27.— Rozman, C., Capdevila, J., Woessner, S., & Martí, I. Hemoglobinopatía H (forma de alfa talasemia) en una familia española. *Rev. Clin. Esp.*, 103:373, 1966.
- 28.— Sáenz, G.F., Alvarado, M., Alfaro, E. et al. Diagnóstico neonatal de hemoglobinopatías. Hallazgos en muestras de sangre de cordón umbilical. *Sangre*, 22:339, 1977.
- 29.— Sáenz, G.F., Jiménez, E. & Mora, L. Enfermedad por hemoglobina H en Costa Rica. *Sangre*, 24:333, 1979.
- 30.— Schneider, R.G., Haggard, M.E., Gustavson, L.P. et al. Genetic haemoglobin abnormalities in about 9000 black and 7000 white newborns. Hemoglobin F. Dickinson (A gama 97 His-Arg), a new variant. *Brit. J. Haemat.*, 28:515, 1974.
- 31.— Schwartz, E., & Atwater, J. Alpha-thalassaemia in the American Negro. *J. Clin. Invest.*, 51:412, 1972.
- 32.— Singer, K., Chernoff, A.I. & Singer, L. Studies on abnormal hemoglobins. I. Their demonstration in sickle cell anemia and other hematologic disorders by means of alkali-denaturation. *Blood*, 6:415, 1951.
- 33.— Taylor, J.M., Dozy, A., Kan, Y.W., Varmus, H.E., Lie-Injo, L.E., Ganesan, J., Todd, D. Genetic lesion in homozygous alpha-thalassaemia (hydrops fetalis) *Nature*, 251: 391, 1974.
- 34.— Wasi, P., Disthasongchan, P., & Na-Nakorn, S. Immunologic diagnosis of alpha-thalassaemia. *J. Med. Ass. Thail.*, 56:654, 1973.
- 35.— Wasi, P., Na-Nakorn, S., & Pootrakul, S. The alpha-thalassaemias, cap. 7, pp. 383-410 In: *Clinics in haematology*, vol. 3 (Abnormal haemoglobins). W.B. Saunders Co., 1974.
- 36.— Went, L.N., & McIver, J.E. Thalassaemia in the West Indies. *Blood*, 17:166, 1961.
- 37.— Weatherall, D.J. The molecular basis for abnormal gene action: recent lessons from the thalassaemia model. *Clinic. Sci. Molec. Med.*, 52:223, 1977.
- 38.— Wong, V., Ma, H.K., Todd, D. et al. Diagnosis of homozygous alpha-thalassaemia in cultured amniotic-fluid fibroblast. *N. Engl. J. Med.*, 298: 669, 1978.