

# BETA TALASEMIA MAYOR (ENFERMEDAD DE COOLEY) POR HOMOCIGOSIDAD DE GENE SUPRESOR ( $\beta^0$ )

Walter E. Rodríguez\*, Guillermo Jiménez\*\*, Edgar Calderón\*\*, German F. Sáenz\*

## RESUMEN

*En un niño caucásico de tres años de edad, nativo de San Isidro de El General, Costa Rica se logra demostrar un cuadro severo de  $\beta$ -tal mayor, debido a la herencia de dos determinantes alélicos de carácter  $\beta$ -tal supresor ( $\beta^0$ ), por lo que su enfermedad homocigótica de Cooley es de genotipo  $\beta^0/\beta^0$ . Este es el primer caso que se demuestra en Costa Rica. [Rev. Cost. Cienc. Méd. 1989; (2):75-79].*

## INTRODUCCION

En Costa Rica se han encontrado tres casos de Enfermedad de Cooley. El primero se reportó en 1975 (12) con dos posibles genotipos,  $\beta^0/\beta^+$  ó  $\beta^+/+$   $\beta^+$ -talasemia. En 1981 se reportó el segundo hallazgo (15), también con genotipos compatibles como en el caso anterior. En ambas comunicaciones se hizo evidente la presencia de al menos un alelo  $\beta^+$ -tal, por la existencia de HbA en el hemoglobinograma de los propositus. En el tercer reporte sobre  $\beta$ -tal mayor o intermedia, se logró demostrar un genotipo  $\beta^0/(\delta \beta^0)$  (16), con una repercusión clínica atenuada del trastorno, en virtud de la moderada compensación dada por los

niveles de incrementados de la Hb Fetal, a pesar la ausencia de HbA. En la presente comunicación se menciona la cuarta enfermedad talasémica mayor u homocigótica de tipo  $\beta^0/\beta^0$ -tal, con total ausencia de HbA y, como era de esperarse, con severa repercusión clínica, constituyéndose en el primer caso nacional en donde concurren dos alelos  $\beta$  talasémicos de carácter supresor ( $\beta$ -tal).

El propositus es un niño caucásico de tres años de edad, procedente del distrito de Pejibaye de Pérez Zeledón, Costa Rica, producto de un parto normal, con edad gestacional de 37 semanas, peso de 2.380 g y talla de 47 cm, con ictericia franca a las 15 horas de nacido, con una bilirrubinemia de 9,2 mg/dl de carácter indirecto, con prueba débilmente positiva de Coombs, siendo la madre grupo O, Rh positivo y el del niño grupo A, Rh positivo. Ingresó dos meses después al hospital con una hemoglobina de 6,3 g/dl, en mal estado general, con leucocitosis linfocítica y morfología aberrante de los glóbulos rojos, con 5 por ciento de eritroblastos e hiperbilirrubinemia de 2,0 mg/dl de tipo indirecta. Se transfundió en este período y se le dio la salida. Antes de recibir la sangre, se tomó una muestra para estudio por hemoglobinopatía.

## Presentación del Caso

Se utilizaron los métodos estándar en hematología (3). La electroforesis de la Hb se practicó en placas de acetato de celulosa TITAN III de la Casa He-

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

\*\* Hospital Dr. Escalante Pradilla, San Isidro del General, Costa Rica.

lena, a pH 8,6, en tampón de Tris- Edta-Borato, de acuerdo con Schneider (19) y en geles de agar, a pH 6,2, según Robinson et al. (11). La Hb A<sub>2</sub> se cuantificó por micromatografía con DE-52 (4); la Hb F se estimó por el método de Singer et al. (20), y la HbF intraeritrocitaria se investigó según el método de Betke, ligeramente modificado (7). El resultado de estos estudios fue un diagnóstico de talasemia mayor, sustentado por un estudio familiar. El 6 de setiembre de 1989 ingresa de nuevo el propóitus, notándose sumamente pálido, decaído; su Hb fue de 3,8 g/dl y se vuelve a transfundir, subiendo su Hb a 8,8 g/dl. En la actualidad el abordaje terapéutico es a base de transfusiones de sangre y ácido fólico por vía oral.

En el cuadro I se indican los correspondientes hallazgos hematológicos que permitieron efectuar el diagnóstico del trastorno homocigota. El estudio de la HbF intracelular demostró un patrón panóptico, homogéneo, como era de esperarse en un paciente en donde prácticamente toda su Hb es de tipo fetal, con ausencia absoluta de HbA y un valor de HbA<sub>2</sub>. En los padres y dos hermanos se determinó la existencia de la clásica -tal menor tipo HbA<sub>2</sub> alta, siendo normales los resultados en un tercer hermano. Dada la inexistencia de HbA en el propóitus, se infiere que los determinantes β talasémicos de sus padres sean de tipo supresor, es decir, β tal, por lo que el genotipo homocigota resulta ser β<sup>0</sup>/β<sup>0</sup>tal, con un hemograma propio de esta condición, con marcada microcitososis hipocrómica, codocitosis severa, poiquilocitosis importante, alto grado de basofilia difusa, cuerpos de Howell Jolly, punteado basófilo discreto, presencia de esferocitos y esquizocitos, y una eritroblastemia de 5 por ciento.

## DISCUSION

La β-tal es una enfermedad autosómica recesiva, caracterizada por una anemia hemolítica hipocrómica que exige la transfusión sanguínea para mantener la vida del paciente homocigoto (21), pues no existe tratamiento curativo y las medidas sintomáticas son difíciles de administrar y de alto costo (8). Aún con los modernos procedimientos de quelación de hierro para remover el exceso del mismo de los depósitos (10), la expectativa de vida en la β-tal mayor clásica es de 25 a 30 años, como promedio (6). Contrario a las α-tal, las β-tal se producen como consecuencia de genes no funcionales, más que por supresiones de genes (9). Hasta 1988, se conocían 51 puntos de mutación y tres supresiones en el gene β, cada uno de ellos con su correspondiente expresión genética (6). Estas mutaciones, las cuales en su gran mayoría constituyen simples sustituciones de nucleótidos en el ADN (por ejemplo: AAG-TAG), logran producir efectos en la transcripción, en el empalme del ARN, en la maduración de ARNm o en la traducción (11). Se estima que hoy en día se conoce el 99 por ciento de los efectos del gene β-tal, por lo que las β-tal constituyen el primer trastorno en los genes debido a múltiples mutaciones alélicas cuyas bases moleculares han sido completamente caracterizadas (1,6). El diagnóstico prenatal en la β-tal (9-11 semanas de gestión) ha progresado enormemente en los últimos años, hasta llegarse en la actualidad a la detección directa de los aletos mutantes (1, 5, 6, 8, 18, 22) con el uso de reactivos no radiactivos, tipo reacción en cadena de la polimerasa (1, 2, 8, 18, 22). Esta sorprendente tecnología ha hecho obsoleta a la usada en

**CUADRO I**  
**VALORES HEMATOLOGICOS DE LA FAMILIA TALAEMIA**  
**MAYOR DE UN PROPOSITUS (II-4) CON BETA**

Designación Pedigree	Edad/ Sexo	Hto (ml/dl) Hb (g/dl)	CHCM (%)	Reticul. (%)	F.O. (0,36) (%)	Patrón Electro- forético Hb	HbF (%)	HbA <sub>2</sub> (%)	Diag- nóstico
I-1	39/M	48/13,9	29,0	2,5		AA <sub>2</sub>	0,37	6,0	β-tal Heterocigota
I-2	39/F	42/12,7	30,0	2,8		AA <sub>2</sub>	2,00	5,3	β-tal Heterocigota
II-1	14/M	43/12,7	29,5	3,0		AA <sub>2</sub>	1,60	5,6	β-tal Heterocigota
II-2	11/M	42/12,2	29,0	2,4		AA <sub>2</sub>	2,35	6,2	β-tal Heterocigota
II-3	8/F	45/15,0	33,0	1,5	Normal	AA	0,15	2,5	Normal
II-4	3/M	14/3,8	27,0	8,5		FA <sub>2</sub>	94,0	2,9	β-tal Homocigota

la década 1970-80 para el diagnóstico prenatal de la  $\beta$ -tal, con base en el ADN recombinante. Ha sido muy afortunado el hecho de que estas novedosas tecnologías de biología molecular se hayan favorecido por la circunstancia de que el gene  $\beta$  sea inusualmente pequeño y simple para ser un gene humano, pues tiene un tamaño de 1,5 kb, y solo dos intrones (6). El que exprese un determinante  $\beta$ -tal como supresor ( $\beta^0$ ) o depresor ( $\beta+$ ) dependerá de la severidad de la mutación llevada a cabo en el ADN, caracterizándose el tipo  $\beta^0$  por la total ausencia de síntesis de cadenas  $\beta$  (21). Este determinante ha sido reportado en forma heterocigota en Costa Rica en dos comunicaciones anteriores (13, 16).

En este informe, se hace evidente un genotipo tal homocigota por la herencia de dos alelos mutantes  $\beta$  tal de carácter supresor, al no encontrarse HbA en su hemoglobinograma. Sus padres, como era de esperarse, son poseedores del rasgo o forma heterocigota de  $\beta$ -tal menor. La presentación del cuadro clínico y sus hemogramas resultaron ser compatibles con esa forma severa de  $\beta$ talasemia mayor, ya deletérea desde temprana edad de la vida (21). El patrón hemoglobínico de esta condición consiste enteramente por HbF con niveles variables de HbA<sub>2</sub> y ausencia total de HbA. La severa anemia cursa con un alto cómputo relativo de reticulocitos, a pesar de que es bajo en términos absolutos con relación al grado de anemia. Este fenómeno se debe a la importante eritropoyesis ineficaz que caracteriza a esta hemoglobinopatía (17). A pesar de que el principal pigmento respiratorio es la HbF, en términos absolutos no es lo suficientemente alto como para compensar adecuadamente la ausencia de síntesis de HbA

(17, 21). Como resultado de ello hay una fuerte hiperplasia eritroblástica en médula ósea de carácter ineficaz.

Con la presente información se acumula en Costa Rica un total de cuatro casos de  $\beta$ -tal mayor o intermedia, lo cual no es causa de sorpresa, ya que la frecuencia de  $\beta$ -tal menor o heterocigota en Costa Rica es del 0,25 por ciento en escolares (14).

## BIBLIOGRAFIA

1. Cai, S.P., Chang, C.A., Zhang, J., Saiki, R.K., Erlich, H.A. Kan, Y.W. Rapid prenatal diagnosis of  $\beta$ -thalassaemia using DNA amplification and non radioactive probes. *Blood*, 1989, 73:372-374.
2. Cao, A., Gossens, M., Pirastu, M.  $\beta$ -talassaemia mutations in mediterranean populations. *Brit. J. Haemat.*, 1989; 71: 309-312.
3. Dacie, J.V., Lewis, S.M. *Hematología Práctica*, Segunda Edición, VI Ed. Toray, S.A. Barcelona, 1970; 40-70.
4. Efremov, G.D., Huisman, T.H.J., Bowman, K., Wrightstone, R.N. Microchromatography of hemoglobins. II. A rapid method for the determination of hemoglobin A<sub>2</sub>. *J. Lab. Clin. Med.*, 1974; 83:675-664.
5. Engelke, D.R., Hoener, P.H., Collins, F. Direct sequencing of enzymatically amplified human genome DNA. *Nature*, 1987; 330: 384-387.
6. Kazazian, H.H., Boehm, C.D. Molecular basis and prenatal diagnosis of  $\beta$ -talassemia. *Blood*, 1988; 72: 1107-1116.
7. Kleihauer, E. Determination of fetal hemoglobin: elution technique. In: *Standardization of laboratory reagents and methods for the detection of hemoglobinopathies*. Centers for Disease Control, Atlanta, 1974; 25-30.
8. Kulizik, A.E., Lyons, J., Kohne, E., Bartram, C.R., Kleihauer, E. Rapid and non-radioactive prenatal diagnosis of  $\beta$ -thalassaemia and sickle cell disease: application of the polymerase chain reaction (PCR). *Br. J. Haemat.* 1988; 70: 455-458.

9. Milner, P.I. Thalassemias, hemoglobinopathies and sickle cell disease. *Hematology*, vol. 2., (Fairbanks, V.I., Ed.), John Wiley and Sons, Inc. 1983; 192-196. New York 12.
10. Pippard, M.J. Iron bonding and chelation therapy. *The thalassaemias*; (Weatherhall, D.J. Ed.), Churchill-Livingstone, London, 1983; 103-108.
11. Robinson, A.R., Robson, M., Harrison, A.P., Zuelzer, W.W. A new technique for differentiation of hemoglobin, *J. Lab. Clin. Med.*, 1975: 50: 745-752.
12. Sáenz, G.F., Monge, B. Arroyo, G. Alvarado, M.A. Enfermedad de Cooley ( $\beta$ -tal mayor) en Costa Rica, *Sangre*, 1976; 21: 117-122.
13. Sáenz, G.F. Elizondo, J., Páez, C.A. Hallazgo del gene  $\beta^0$ -talasémico (supresor) en Costa Rica. y. Síndrome de heterocigosis doble S/ $\beta^0$ -tal *Sangre*, 1978: 23: 196-201.
14. Sáenz, G.F., Elizondo, J. Arroyo, G., et al. Hemoglobinopatías en 12.000 escolares. *Acta Med. Cost.* 1980; 23:89-99.
15. Sáenz, G.F., Navarrete, M., Mora, L., Jiménez, J., Montero, A.G., Arroyo, G. Beta talasemia mayor. (Enfermedad de Cooley). Consideraciones sobre biología molecular y estudio de una familia. *Acta Med. Cost.* 1981; 24:143-149.
16. Sáenz, G.F., Carrillo, J.M., Mora, L., et al. Beta talasemia intermedia de genotipo  $\beta^0/\delta\beta^0$ . Comunicación de un caso. *Sangre*, 1984: 29: 467-472.
17. Safaya, S., Rieder, R.F., Dowling, C.E., Kazazian, H.H., Adams, J.G. Homozygous  $\beta$ -thalassemia without anemia. *Blood*, 1989: 73:324-328.
18. Saike, R.K., Scharf, S. Falovna, F., et al. Enzimatic amplification of  $\beta$ -globin genomic secuencias and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 1985: 230:1350-1354.
19. Schneider, R.G. Differentiation of electrophoretically similar hemoglobins such as S, D, G, and P: or A<sub>2</sub>, C, E, and O by electrophoresis. *Clin Chem.* 1974: 20: 1111-1115.
20. 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*, 1951: 6: 413-428.
21. Weatherall, D.J. *The thalassaemias*. Churchill-Livingstone, Nueva York, 1983:22-29.
22. Wong, C., Dowling, C.E., Saiki, R., Higuchi, R.G., Erlich, H.A. Kazazian, H.H. Characterization of  $\beta$ thalassaemic mutations using genomic secuencing of amplified single copy DNA. *Nature* 1987; 330: 384-387.