

SINDROMES DE BETA TALASEMIA MENOR O HETEROCIGOTA III. HALLAZGOS EN 130 CASOS

*German F. Sáenz**, *German Sánchez***, *Mario Chaves**, *Alberto Barrantes***,
*Mariano Castillo***, *Omar Quesada****, *Walter Rodríguez**,
*Javier Jiménez**, *Alberto Montero**

RESUMEN

De los 130 casos de beta talasemia menor o heterocigota un 86 por ciento de los mismos correspondieron a costarricenses caucásicos, quedando el resto (14%) repartido en individuos extranjeros o con ancestros de otros países, tal el caso de un 7 por ciento para los de ascendencia italiana. Se destaca la mayor frecuencia de la variedad clásica de la β -tal menor tipo Hb A₂ alta (82,4%) en los 130 casos estudiados, con respecto a la del tipo Fo β -tal (17,6%). Se demuestra que en 104 de los casos (81%) privaron, como era de esperar, niveles de Hb iguales o mayores de 11,0 g/dl, siendo por el contrario menor de esta cifra (19%) en la mayoría de los portadores que presentaban ya fuese infección y/o deficiencia de hierro o, en su caso, gravedad, no siendo posible cuantificar o identificar otras causas agregadas de anemia en estos casos. [Rev. Cost. Cienc. Méd. 1988; 9(1):1-6].

INTRODUCCION

En un primer artículo (9) nos permitimos señalar las características genéticas, moleculares y clínicas de los síndromes de beta talasemia (beta tal) menor, en el contexto de su heterogeneidad biológica y molecular. En un segundo informe (11) se hizo una revisión de los aspectos del diagnóstico de laboratorio de la beta-tal menor, con énfasis en las pruebas de escrutinio y en los análisis de certeza que permiten diagnosticar estos trastornos de los genes de globina beta, los cuales se localizan en el cromosoma 16 (14). En esta tercera entrega se relata los hallazgos hematológicos obtenidos en 130 casos individuales de esta patología hereditaria.

MATERIAL Y METODOS

De los 130 casos estudiados, 50 de ellos ya habían sido diagnosticados previamente y los 80 restantes fueron detectados por solicitud expresa de su médico o por hallazgos de laboratorio y con base en nuestro protocolo analítico para el estudio de síndromes de talasemia (6). De los 130 casos estudiados, 78 fueron mujeres (68%) y el resto varones. La edad osciló entre los 3 años y los 40, con predominio de la década de los 20 a 30 años (115/130). Ocho de las mujeres estaban en cintas

* Centro de Investigación en Hemoglobinas Anormales y Trastornos Atípicos (CIHATA).
Cátedra de Hematología, Facultad de Microbiología,
Universidad de Costa Rica, Hospital San Juan de Dios,
San José, Costa Rica.

** Servicio de Hematología, Hospital Calderón Guardia,
C.C.S.S., San José, Costa Rica.

*** Servicio de Hematología, Hospital Max Peralta, C.C.S.S.,
Cartago, Costa Rica.

al momento del diagnóstico o del estudio. Salvo en tres pacientes adultos en los que se pudo detectar una ligera esplenomegalia, en el resto el examen físico fue totalmente normal. Los estudios hematológicos de rutina se efectuaron con los métodos convencionales (1, 7). En doce ocasiones, fue posible realizar cálculos de eritrocitos con un contador Coulter Mod. ZBI. La electroforesis de la Hb se llevó a cabo en acetato de celulosa (TITAN III, Helena Laboratories), con tampón de trisEdta-borato a pH 8,6 (12). La cuantificación de la Hb A₂ se realizó tanto por electroforesis elución (5) como por microcromatografía de DE-52 con tampón de tris-HCl, pH 8,30 (3,8). La Hb F se cuantificó por el método de la desnaturalización de Singer *et al.* (13) En 15 muestras se llevó a cabo la prueba de la lisis con glicerol (15) y, en todos, la prueba de fragilidad osmótica al 0,36 por ciento de NaCl de Kattamis *et al.* (2). Cuando se estimó pertinente, se efectuó la tinción citológica de la Hb F (4) en aquellos patrones

con alta concentración relativa de esa Hb. En 80 muestras se tuvo la oportunidad de medir la protoporfirina eritrocítica ligada a Zinc (PP-Zn) con base en el uso de un hematofluorómetro (AVIV Laboratories, Lakewood, New Jersey, USA), y en todas la cuantificación de FeS y CTFFeS fue de acuerdo con el método del CIHATA (10).

RESULTADOS

Beta talasemia clásica:

Del total de 130 casos de beta-tal menor que lograron identificarse, 102 (78,5%) correspondieron al tipo clásico de beta-tal, 23 (17,7%) a la variante β-tal o F-tal, y 5 (3,8%) al tipo con Hb A₂ y Hb F altas. En el Cuadro 1 se indican las características hematológicas más relevantes de 84 casos de beta-tal menor clásica cuyo hematocrito (Hcto) fue igual o mayor de 35 ml/dl, y su hemoglobina (Hb) igual o mayor de 11 g/dl, siendo arbitraria la escogencia de esos valores discriminatorios.

CUADRO 1

β TALASEMIA MENOR = HALLAZGOS EN 84 CASOS (Hb ≥ 11 g/dl)

| | Hcto (%) | | | Hb (g/dl) | | | HbA ₂ (%) | Hb F (%) |
|----------------|----------|------|-----------|-----------|------|-----------|----------------------|----------|
| | ̄X | D.S. | rango | ̄X | D.S. | rango | rango | rango |
| Hombres | | | | | | | | |
| (n=20) | 39,5 | 3,0 | 35,0-45,3 | 11,8 | 0,9 | 11,0-13,4 | 4,7-7,5 | 0,3-2,7 |
| Mujeres | | | | | | | | |
| (n=66) | 37,5 | 1,6 | 35,0-41,0 | 11,4 | 0,7 | 11,0-13,7 | | |

Sólo en dos casos pudo demostrarse un índice de saturación (IS) menor de 16 por ciento, correspondiendo a dos mujeres embarazadas. En una de ellas la PP-Zn fue netamente elevada (9,5 ug/g de Hb) en tanto que en la otra lo fue solo ligeramente (3,5 ug/g de Hb). En 8 casos (9,5 %) fue posible detectar hiperferremia (< de 160 ug/dl), en 6 mujeres y 2 varones, comportándose normal la PP-Zn.

En este grupo fue en donde precisamente se logró hacer uso del contador electrónico, obteniéndose en 12 casos femeninos los valores: Eritrocitos = $5,75 \times 10^5/\text{ul}$; $\pm 0,5$; Hcto = $38,6 \text{ ml/dl}$; $\pm 2,9$; Hb = $11,8 \text{ g/dl}$; $\pm 1,3$; VCM = $69,7\text{fl}$; $\pm 4,0$; HCM = $21,7\text{og}$; $\pm 1,5$; CHCM = $31,1\% \pm 0,8\%$ (manualmente = $30,1 \pm 1,1$).

Dieciocho casos de beta-tal fueron incluidos en un grupo aparte por poseer un Hcto menor de 35 por ciento y una Hb menor de 11 g/dl. Los datos más sobresalientes de este grupo se indican en el Cuadro 2.

En tres casos de varones (uno de ellos niño) y en 4 de mujeres (una de ellas niña) de este grupo "anémico", la PPZn fue mayor de 6 ug/g de Hb (normales = < de 2.5). Este hallazgo de ferropenia fue confirmado por el perfil de Fe sérico (FeS y CTFFeS). En otros 6 casos la PP-Zn fue ligera a moderadamente alta (3.3-5.5 ug/g de Hb), con un perfil de FeS y de la CTFFeS no característico de ferropenia, por lo que se creyó que pudiera tratarse de pacientes con un proceso inflamatorio o infeccioso concomitante que se sabe afectan aquel índice. De esta suerte, en 5 de esos 6 casos, 4 mujeres y un hombre, pudo determinarse proceso infeccioso, especialmente de las vías urinarias. Además, 3 de las mujeres de este grupo eran grávidas, dos de ellas con sepsis urinaria.

Delta-beta o F-talasemia

En el Cuadro 3 se pueden apreciar los resultados obtenidos en 23 casos de F-tal con índice hematocrito igual o mayor de 35 por ciento, y Hb igual o mayor de 11 g/dl.

CUADRO 2

β TALASEMIA MENOR = HALLAZGOS EN 18 CASOS (Hb < de 11 g/dl)

| | |
|---------------------|----------------------------|
| Hcto = | $31,8 \pm 2,5\%$ |
| Hb = | $9,8 \pm 1,3 \text{ g/dl}$ |
| CHCM = | $30,2 \pm 1,5\%$ |
| Hb A ₂ = | $6,3 \pm 0,6\%$ |
| Hb F = | $1,7 \pm 0,8\%$ |

CUADRO 3

β TALASEMIA MENOR = HALLAZGOS DE LABORATORIO EN 15 CASOS (Hb > de 11 g/dl)

| | |
|---------------------|-----------------------------|
| Hcto = | $39,0 \pm 3,4\%$ |
| Hb = | $11,9 \pm 1,3 \text{ g/dl}$ |
| CHCM = | $30,5 \pm 1,4\%$ |
| Hb A ₂ = | $2,9 \pm 0,3\%$ |
| Hb F = | $8,0 \pm 3,2\%$ |

En dos mujeres con esta variedad de F-tal se pudo comprobar un perfil de Fe anormal, compatible con deficiencia de hierro. En uno de los casos la PP-Zn fue de 7,8 ug/g de Hb, en tanto lo fue ligeramente aumentada en el otro (3,9 ug/g de Hb). Se encontró 8 casos de F-tal con "índice anémico" (<de 11 g de Hb/dl). Fue llamativo el hecho de que 4 casos (50 por ciento), tres mujeres y un hombre, presentaron patrones de deficiencia de Fe, mostrándose la PP-Zn alta (5,0, 6,3 u 7,1 ug/g de Hb) en los que se le estudió. Tres mujeres del grupo se hallaban con gravedad y dos presentaban proceso infeccioso concomitante.

En 5 casos con Hb > de 11.0 g de Hb/dl fue posible demostrar el tipo de beta-tal menor clásica con HbA₂ alta, asociada a niveles aumentados de Hb F (> de 4 por ciento); todos ellos correspondientes a mujeres. En dos de estos casos se pudo efectuar la PPZn, obteniéndose resultados normales. En todos, el perfil de FeS fue normal. La imposibilidad de efectuar estudios familiares no permitió excluir la coexistencia en algunos de ellos del gene Beta-tal con una segunda anomalía genética como es la PHHbF heterocelular. En todos los 104 casos de beta-tal menor sin índice anémico, el cómputo de reticulocitos osciló entre 0,8 y 3,5 por ciento, encontrándose el 80 por ciento de los casos entre 2,5 y 3,5 por ciento. En los pacientes con índice anémico, el cómputo osciló 0,8 y 5,3 por ciento, con prevalencia del rango 2,2-4,2 por ciento. Solamente en 14 casos fue posible cuantificar folatos séricos. Salvo un caso femenino con niveles de 2,8 ug/L (normales = de 5 a 15 ug/L) todos los demás se encontraban con valores normales. Se destaca el hecho de que

al menos el 30 por ciento de esos pacientes tomaban regularmente dosis diarias de folatos de acuerdo con prescripción médica. De 80 casos de β-tal menor en los que intencionalmente se investigó, 20 de ellos (90 por ciento mujeres) habían recibido tratamiento por hierro por varios años. De acuerdo con el enfoque étnico realizado, fue posible demostrar que 112 casos correspondían a costarricenses caucásicos "autóctonos", sin mayores detalles sobre una posible relación étnica con inmigrantes de otros países, a no ser la obviamente española. En los 18 casos restantes la distribución fue la siguiente:

- 2 casos de β tal clásica con ascendencia alemana
- 3 casos de β tal clásica de origen norteamericano
- 1 caso de β tal de raza negra costarricense
- 1 caso de β tal clásica de ascendencia china
- 2 casos de β tal clásica de origen libanés
- 9 casos de ascendencia italiana, 6 del tipo β tal clásica, 2 de F-tal y uno de β tal clásica con Hb F alta.

DISCUSION

En este estudio, pudo comprobarse que el hemograma de los pacientes no complicados reflejan las características propias de estos síndromes: por lo general, anemia discreta de estirpe microcítico hipocrómico, con un característico desfase de la relación Hcto/Hb, y una morfología roja claramente alterada con relación a niveles subnormales de Hb. De los 130 casos estudiados, 107 (82,4%) correspondieron a la frecuente y clásica β tal menor

tipo Hb A₂ alta, siendo 23 casos de la variante tipo Hb Falta (17,6%). En 104 de los casos (81%) privó una tasa de Hb igual o mayor de 11 g/dl, hallazgo que es característico de las formas no complicadas de β tal menor. En todos los 130 casos la prueba de la F.O. al 0,36 por ciento fue positiva, lo que le da validez analítica a esta sencilla prueba de escrutinio, con menos de 50 por ciento de hemólisis en la prueba cuantificada. Asimismo, en 15 de ellos en los que se practicó la prueba de la lisis con glicerol, se obtuvieron valores francamente elevados de más de 2000 segundos (normales = > de 1800 seg), hecho que refleja la condición celular hipocrómica de los eritrocitos de la β tal y, en especial, de una razón incrementada del cociente área de superficie/volumen. En 15 casos (11 mujeres y 4 hombres) casi todos con bajos niveles de Hb (< de 11.0 g/dl) fue posible demostrar también una deficiencia de hierro, no alterándose en ninguno los niveles diagnósticos de la Hb A₂. En 8 casos fue posible advertir un proceso infeccioso, precisamente encontrados en su mayoría en los pacientes con menor nivel de Hb. La prueba de la PP-Zn demostró su valor de escrutinio para demostrar deficiencia de hierro o factible inflamación crónica. También en seis mujeres grávidas pudo observarse los niveles más bajos de Hb respecto del grupo β talasémico con Hb mayor o igual a 11 g/dl. Solamente se encontró una paciente, de 14 estudiadas, en donde el nivel de folatos séricos dio resultados menores de lo normal. Se pudo constatar, asimismo, que un 25 por ciento de los pacientes habían recibido hierro oral y/o parenteral por varios años. Del total de casos estudiados, 112 (86%) correspondieron a costarricenses caucá-

sicos de obvia extracción española, quedando el resto de la población repartida para otras etnias o individuos extranjeros con ancestros originarios de otros países, con predominio (7%) para los de ascendencia italiana.

ABSTRACT

One hundred and thirty cases of beta thalassemia minor were studied, of which 86 percent were Costa Rican Caucasians and 14% were foreigners or descendants of foreigners seven percent were of Italian descent.

The classic variety of β- thal minor with high HbA₂ was most frequent (82.4%); the rest (17.6%) were β-thal minor type F (or β thal). As expected, hemoglobin levels were equal to or above 11.0 g/dl in 104 subjects, most of the others (19%) had infection, iron deficiency anemia, or were pregnant.

BIBLIOGRAFIA

1. Dacie, J.V.; Lewis, S.M.: "Hematología práctica". 6th. E. Ediciones Toray, S.A. 1985; 22-49.
2. Kattamis, C., Efremow, G., Pootrakul, S. Effectiveness of one tube osmotic fragility screening in detecting β-thalassaemia trait. *J. Med. Genet.* 1981; 18:266-270.
3. Efremov, G.D.; Huisman, T.H.J.; Bowman, K.; Wrightstone, R.N.: "Microchromatography of hemoglobins. II. A rapid method for the determination of hemoglobin A₂". *J. Lab. Clin. Med.*, 1974; 83:647-652.
4. Kleihauer, E: "Determination of fetal hemoglobin: Elution technique. In: *Standardization of laboratory reagent and method for the detection of hemoglobinopathies*". Publication of the Center for Disease Control, Atlanta, Ga. 1974: 19-20.

5. Marengo-Rowe, A.J.: "Rapid electrophoresis and quantitation of hemoglobins on cellulose acetate". *J. Clin. Path.* 1965; 18:790-796.
6. Sáenz, G.F. Diagnóstico convencional de laboratorio de los síndromes talasémicos. *Sánchez* 1980; 25:63-76.
7. Sáenz, G.F.; Moreira, J.: "*Laboratorio de Hemoglobinopatías* ". Manual Latinoamericano. Universidad de Costa Rica, Ministerio de Salud, D.P 1980: 75-117.
8. Sáenz, G.F., Barrantes, A.; Jiménez, J.; Montero, A.G.; Schosinsky, K.; Grant, S., Alfaro, E.: Valenciano, E.: Chaves, M. Estudios de la hemoglobina A₂ por microcromatografía en DEAE-celulosa (DE-52). *Sangre* 1981; 26:1083-1090.
9. Sáenz, G.F. y Sánchez, G. Síndromes de beta talasemia menor. I. Aspectos genéticos y moleculares; consideraciones clínicas. *Rev. Méd. Hosp. Nal. Niños* (Costa Rica 1984; 19:31-46.
10. Sáenz, G.F., Chaves, M., Arroyo, G., Valenciano, E., Jiménez, J., Montero, A.G. y Quintana, E. Hierro sérico y transferrina funcional (capacidad total de fijación de hierro). Preconización de una metodología. *Rev. Cost. Cienc. Méd.* 1985; 6:51 -64.
11. Sáenz, G.F., Chaves, M., Montero, A.G. & Jiménez, J. Síndromes de beta talasemia menor o heterocigota. II. Aspectos analítico-diagnósticos. En prensa: *Rev. Cost. Cienc. Méd.* 1988; 9(1):31-46.
12. Schneider, R.G.: "Differentiation of electrophoretically similar hemoglobins such as S, D, G, and P; or A₂: C, E, and O by electrophoresis". *Clin. Chem.* 1974; 20:1111 - 1120.
13. Singer, K.; Chernoff, A.I.; Singer, L.: "Studies on abnormal hemoglobina, I. Their demonstration in sickle cell anemia and other hematologic disorders by means of alkalidenaturation". *Blood* 1951; 6:415-428.
14. Weatherall, D.J. The diagnostic features of the different forms of thalassaemia. In: *The thalasseмии*, D.J. Weatherall, Ed. Churchill Livingstone 1983; 1-26.
15. Zanella, A., Izzo, C., Rebullá, P., Zanuso, F., Perroni, L. and Sirchia, G. Acidified glycerol lysis test: a screening test for spherocytosis. *Brit. G. Haemat.* 1980; 45:481 - 486.