

INSTITUTO DE HEMATOLOGIA E INMUNOLOGIA

Enfermedad por hemoglobina H Estudio de una familia

* Por los Dres.:

PORFIRIO HERNÁNDEZ RAMÍREZ,** HEKIBERTO VIDAL RODRÍGUEZ,***
BRUNO COLOMBO****

Hernández Ramírez, P. et al. *Enfermedad por hemoglobina H. Estudio de una familia*. Rev Cub Med 14 : 2, 1975.

Se realizó el estudio de un paciente portador de una anemia hemolítica. Los datos clínicos y hematológicos del enfermo y sus familiares permitieron llegar al diagnóstico de la enfermedad por HbH. Este es el primer caso reportado en Cuba con esta patología. Se discuten los hallazgos clínicos y el modo de transmisión genético de esta enfermedad.

INTRODUCCION

La hemoglobina del hombre adulto normal está compuesta por dos cadenas α y dos cadenas β , siendo la fórmula de esta molécula la $\alpha_2\beta_2$ ¹.

En condiciones fisiológicas la síntesis de los dos tipos de cadenas está controlada de tal forma que el número de cadenas α producidas es siempre igual al de las cadenas β . El mecanismo que determina este equilibrio no ha sido todavía aclarado.

Resulta evidente que es de gran importancia para el metabolismo y función celular que no se produzcan exceso de una de las cadenas, pues esto llevaría a un gasto innecesario de energía y a la presen-

cia dentro de las células de cadenas polipeptídicas inestables que pueden precipitarse.

Existen situaciones patológicas hereditarias en las cuales el equilibrio en la síntesis de las dos cadenas no se mantiene.

Se acepta comúnmente el término de "talasanemia" para indicar estos trastornos.² Por lo tanto, se definen como α talasanemia y β talasanemia las condiciones en las cuales está disminuida respectivamente la síntesis de las cadenas α o de las cadenas β .^{2,3} En el primer caso quedan libres en las células las cadenas β , en el segundo hay un exceso de cadenas α .

Las dos cadenas se sintetizan bajo el control de dos genes autosómicos; por lo tanto, estas enfermedades pueden encontrarse en la forma heterocigótica u homocigótica. Las patologías correspondientes han sido estudiadas y se ha apreciado una gran heterogeneidad, observándose estados asintomáticos correspondientes a la forma

* Trabajo presentado en la I Jornada Provincial de Medicina Interna de La Habana, marzo, 1972.

** Subdirector de Asistencia del Instituto de Hematología e Inmunología.

*** Jefe departamento de anemias nutricio- nales.

**** Jefe del departamento de bioquímica.

heterocigótica y anemias hemolíticas de extrema gravedad que son la expresión de la forma homocigótica².

La frecuencia de las talasemias varía en distintos países y en distintas regiones del mismo país¹. La β talasemia se encuentra presente especialmente en la zona del Mediterráneo, pero se ha reportado una frecuencia de un 0,7% de heterocigóticos en la raza negra.⁵ La α talasemia se encuentra muy difundida en Asia, aunque está presente también en otras áreas del mundo².

Tomando en consideración las regiones y poblaciones donde estas enfermedades son habituales, era de esperarse que se encontraran también en Cuba. Hasta el momento no existen datos estadísticos sobre la incidencia de la α y β talasemia en nuestro país. Se ha encontrado un elevado número de casos de β talasemia en la provincia de La Habana y más raramente de α talasemia.⁶

Hay que observar que esta última se presenta en forma extremadamente variable desde los puntos de vista clínico y hematológico, lo que hace difícil llegar al diagnóstico en muchos casos.

Nos parece interesante comunicar el primer caso de enfermedad por hemoglobina H, tipo de α talasemia, que ha sido detectado en Cuba.

MÉTODOS

Los datos hematológicos se obtuvieron con los métodos habituales⁷.

La hemoglobina fetal se determinó con el método de Betke⁸ y la hemoglobina A₂ con el método de cromatografía en DEAE (dietilaminoetil celulosa)⁹.

La electroferesis en gel de almidón se realizó por el método de Smithies¹⁰; el gel se coloreó con bencidina.

Los cuerpos de inclusión se evidenciaron con azul brillante cresil.¹¹ La presencia de hemoglobina inestable se determinó

calentando a 50°C. durante una hora, un hemolizado diluido con *buffer* de fosfato a pH 7,4, de acuerdo con la técnica de Dacie.¹²

La hemoglobina precipitada fue digerida con tripsina, y el *jingerprint* se obtuvo de acuerdo con la técnica de Ingram modificada por Baglioni.¹³

Presentación del caso

J.S. Paciente de 40 años de edad, del sexo masculino, y la raza mestiza, hijo de padre chino y madre cubana, que presta servicios en las fuerzas armadas desde hace 10 años. Ingresó el 21/11/70 por presentar palidez marcada. En su anamnesis refirió que desde el mes de marzo de 1969 era estudiado en otro centro hospitalario por ictericia, con un incremento de la bilirrubina indirecta; este cuadro se acompaña de astenia, anorexia y pérdida de peso ligera. Posteriormente se acentuó su sintomatología y se instaló palidez cutaneomucosa que aumentó en forma progresiva, por lo que fue remitido al Instituto de Hematología para su estudio.

Antecedentes patológicos personales: sin importancia. Antecedentes patológicos familiares: padre muerto por trombosis cerebral; madre muerta por causa no conocida por el paciente; dos hermanos y 4 hijos sin alteraciones aparentes. Examen físico: paciente brevilíneo, de facciones asiáticas, con palidez de piel y mucosas, sin íctero; TA: 130/70; pulso 100/min; hepato- megalia de 3 cm; esplenomegalia que rebasaba 3 cm el reborde costal, bien delimitada, lisa y de borde finó.

En los exámenes complementarios realizados al ingreso se encontraron los siguientes resultados: Hb.: 4,5 g %; Hto.: 14 vol. %; conteo de leucocitos 5 800 X mm³. Fórmula leucocitaria: segmentados 68%; eosinófilos 02%; monocitos 01%; linfocitos 29%.

Conteo de plaquetas 150 000 X mm³. Reticulocitos: 0,5%. En la lámina de periferia: hipocromía -|f- anisocitosis -)|- poiquilocitosis -)|- macrocitosis -\-(• Medulograma: médula megaloblástica con coloración de azul de prusia intensamente positiva. Además, se realizaron los siguientes complementarios: bilirrubina, pruebas funcionales hepáticas, transaminasa pirúvica, colesterol, lípidos totales, urea, glicemia, orina, heces fecales, serología, coagulograma electroforesis de proteínas, bromo-

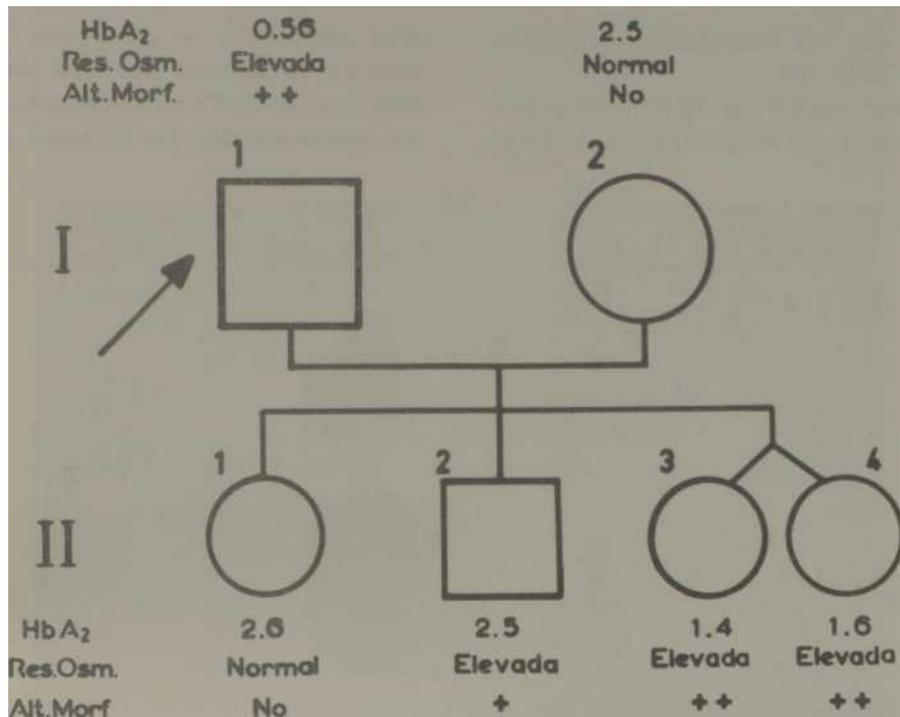


Fig. 1—Arbol genealógico de la familia J.S. El propósito está indicado con la flecha.

sulfaleína; Rx de tórax y huesos: normales.

El estudio laparoscópico y la biopsia hepática demostraron una esteatosis hepática. Se impuso tratamiento con vitamina B₁₂ y ácido fólico con lo que se logró cifras de hemoglobina de 11 g% y reticulocitos de 10%.

Al mantenerse los reticulocitos elevados, el paciente fue valorado como portador de una anemia hemolítica enmascarada por una reacción megaloblástica. Se hizo estudio de la resistencia globular que se encontró aumentada. La autohemólisis, tanto a las 24 como a las 48 horas, con y sin adición de glucosa, *test* de Brewer, Ham, Crosby y Sucrosa, fue negativa.

RESULTADOS Y DISCUSION

La composición del núcleo familiar objeto del estudio, se muestra en la Fig. 1. Los datos hematológicos del propósito y de la familia, se muestran en el cuadro I, en la cual se puede apreciar que el paciente presenta constantes microcíticas e hipocrómicas, resistencia osmótica elevada y un bajo nivel de Hb A₂; un hijo y la es

posa son normales y tres hijos presentan ligeras alteraciones morfológicas. La electroforesis de hemoglobina del paciente presentó una banda rápida, como se observa en la fig. 2. Esta hemoglobina resultó inestable como demostró la prueba de la termolabilidad y la presencia de cuerpos de inclusión que se observan en la fig. 3. Es conocido que existen algunas hemoglobinas anormales que son inestables, precipitan a 50°C y dan positiva la prueba con azul brillante cresil y aunque los datos hematológicos familiares eran muy sugestivos de una enfermedad por HbH, se decidió analizar la hemoglobina inestable. En la fig. 4 se presenta el *fingerprint* de la hemoglobina precipitada al calor, y se puede apreciar que todos los péptidos presentes son los de la cadena β de la hemoglobina normal; los de la cadena α se encontraron ausentes. El análisis por medio de esta técnica demostró definitiva

mente que esta hemoglobina era efectivamente HbH (/8).¹

La enfermedad por HbH puede presentar sus primeras manifestaciones desde una

edad temprana o, en otros casos, no hacerse manifiesta hasta una edad tan avanzada como la de 75 años.² Su sintomatología resulta variable. Los pacientes pueden

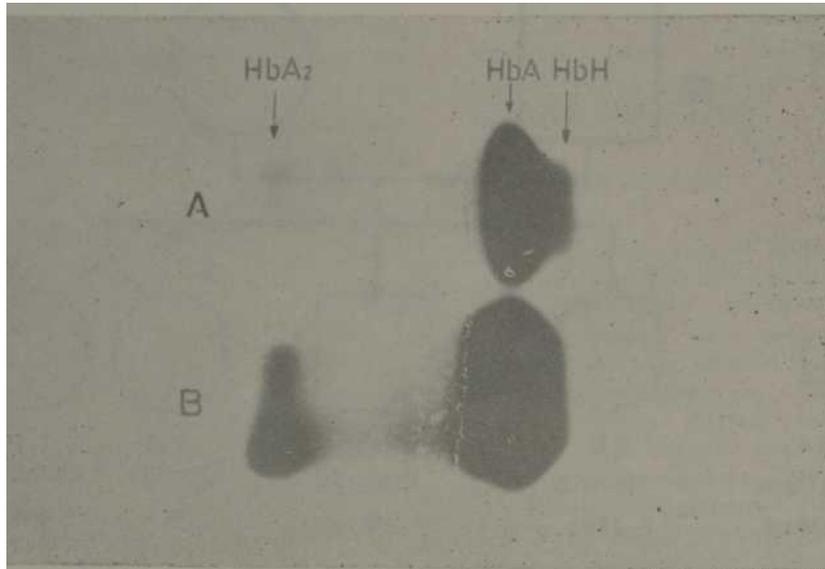


Fig. 2—Electroforesis en gel de almidón a pH 8,6 del paciente (A) y un control (B). Obsérvese el bajo nivel de Hb A₂ en el propósito.

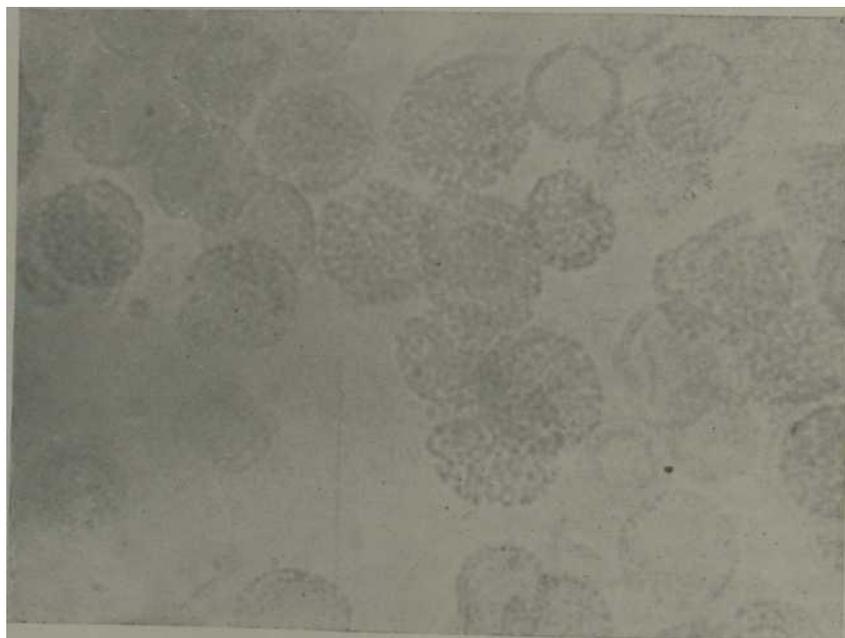


Fig. 3.—Cuerpos de inclusión obtenidos en a sangre fresca del propósito, por incubación con 37 C durante una hora azul brillante cresil.

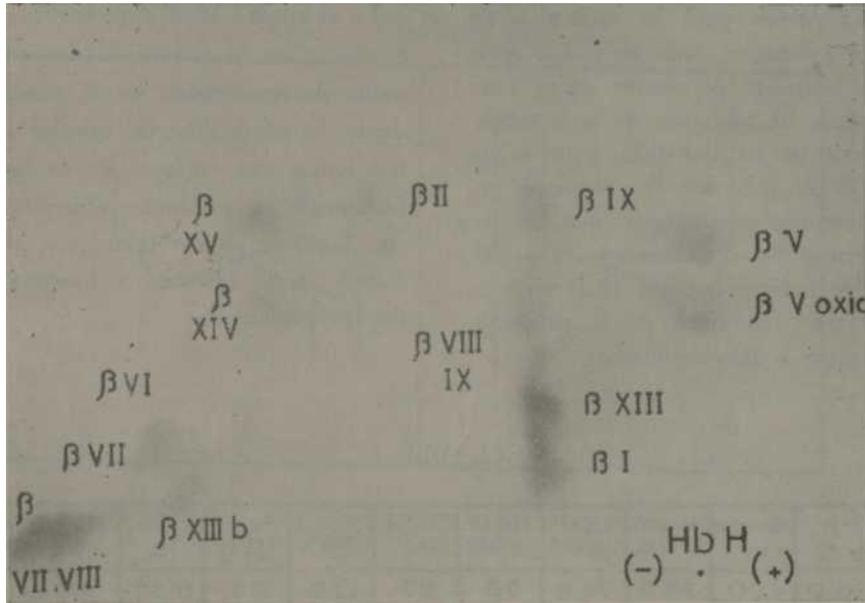


Fig. 4.—Fingerprin de la hemoglobina inestable del paciente.

presentar manifestaciones mínimas; los síntomas más comunes son los secundarios a la anemia. El examen físico también resulta variable pues aparte de una ligera palidez, muchos de los casos reportados no han presentado elementos clínicos notables. Es raro que estos pacientes presenten una esplenomegalia masiva, y la hepatomegalia es un hallazgo infrecuente. Ea presencia de un íctero ligero apreciable en las escleróticas y de aparición intermitente, es una manifestación habitual. El estudio radiológico de los huesos, aunque puede mostrar en algunos casos las alteraciones típicas de las talasemias, con bastante frecuencia resulta normal.

Como podemos apreciar, nuestro paciente presentó los elementos clínico y hematológico para ser considerado un caso típico de enfermedad por HbH.

El modo de transmisión genético de esta enfermedad no ha sido todavía aclarado. El análisis de la familia presentada en este trabajo (fig. 1 y cuadro I) demuestra que no se puede explicar con la exis

tencia de un solo gen α talasanémico. Si se admitiera esta posibilidad, el propósito pudiera ser:

- 1) homocigótico, y todos los hijos deberían ser heterocigóticos y por lo tanto, portadores de algún rasgo talasanémico;
- 2) heterocigótico y entonces, algunos hijos deberían ser normales y otros iguales al padre.

La primera posibilidad se descarta porque existe un hijo normal y la segunda porque no hay ninguno igual al padre. Familias semejantes han sido reportadas por distintos autores.^{14,15,10}

Para explicar el modo peculiar de transmisión de esta enfermedad se han propuesto dos hipótesis: *Wasi, et al*⁴ han sugerido la existencia de dos tipos de genes α talasanémicos. Uno produce rasgos talasanémicos α -Tali, y el otro es silente (α -Tal₂).

La combinación de los dos produce la enfermedad por HbH, mientras que el estado homocigótico para el primero, produce *hidropis fetalis*. De acuerdo con la otra teoría propuesta por *Lehmann*,¹⁰ exis

tirían dos genes para la cadena en cada cromosoma, y cada individuo sería entonces portador de cuatro genes para esta cadena. La mutación de la talasemia sería de un tipo único y un sujeto pudiera llevar uno, dos, tres o cuatro genes talasémicos, produciéndose las distintas formas de α talasemia. Específicamente la enfermedad por H1)H sería la manifestación fenotípica de la presencia de tres genes α talasémicos.

En el cuadro II se esquematizan las dos teorías y en el cuadro III se explica el modo de transmisión en la familia estudiada. Se puede observar que los dos planteamientos son capaces de explicar perfectamente los resultados obtenidos en dicha familia; por lo tanto, con estos hallazgos no se favorece a ninguna de las dos proposiciones.

CUADRO I

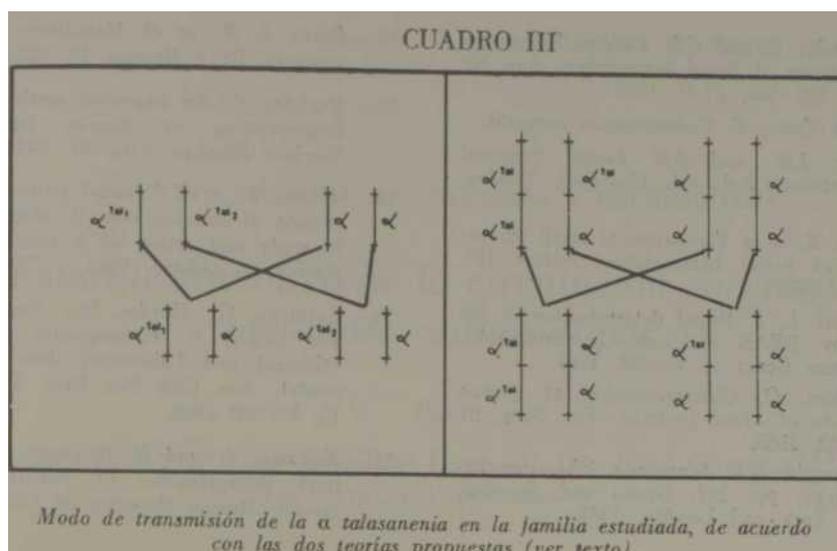
Hb gr %	Hematíes X10 ⁶	Hemato crito %	VCM /**	HCM	CHCM 7.	Retículos	Hierro Sérico	HbA, %	HbF 7.	Resist. Osmot.
10.0	4.90	36.5	74.6	20	27	13.0	95	0.56	3.2	Elevada
12.3	4.40	37	86	28	33	1.4	81	2.5	0.6	Normal
12.0	4.50	38	84	27	31	1.4	112	2.6	0.8	Normal
11.0	4.90	39	79	24	29	2.2	137	2.5	1.1	Elevada
9.8	4.50	32	76	21	30	2.4	71	1.4	0.8	Elevada
10.4	4.75	34	71	21	30	2.8	58	1.6	0.7	Elevada

Datos hematológicos de la lamilla J.S.

CUADRO II

Hallazgos Hematológicos	Genotipos Propuestos	
	Dos Loci para la cadena α	Alelos diferentes al mismo locus
Hb Bart's (V ₂) al nacimiento ningunas o ligeras alteraciones morfológicas		α^+ / α^{*1}
Hb Bart's al nacimiento liger. ras alteraciones morfológicas raros cuerpos de inclusión	$\alpha^+ / \alpha^{*1} V$	$\alpha^{*1} / \alpha^{*1}$ * 077*11 (Cúscó)
Enfermedad por HbH (/ ₂) Hb Bart's al nacimiento HbH Alteraciones morfológicas cuerpos de inclusión		α^+ / α^{*1}
Hidropis Fetal Hb Bart's y HbH condición Letal	$\alpha^{*1} / \alpha^{*1}$	$\alpha^{*1} / \alpha^{*1}$ $\alpha^{*1} / \alpha^{*1}$

Relación entre hallazgos clínicos y genotipos, de acuerdo con las dos teorías propuestas (ver texto).



SUMMARY

Hernández Ramírez, P. et al. *Hemoglobinopathy H. A family study*. Rev Cub Med 14: 2, 1975.

A study of one patient with hemolytic anemia was performed. Clinical and hematological data from the patient and his relatives led to a diagnosis of hemoglobinopathy H. This is the first patient with this pathology reported in Cuba. Clinical findings and genetic transmission of this disease are discussed.

RESUME

Hernández Ramirez, P. et al. *Maladie par hémoglobuline H. Etude (Une famille)* Rev Cub Med 14: 2, 1975.

On a fait une étude d'un malade porteur d'une anémie hémolytique. Les données cliniques et hématologiques du malade et de leur famille ont permis d'arriver au diagnostic de maladie par HbH, étant le premier cas rapporté à Cuba avec cette pathologie. On discute les trouvailles cliniques et la manière de transmission génétique de cette maladie.

PE3KME

ЭрҺаҺфлеч Пампее II, а нр. Еојие3ҺВ реМорјиотіан Һ . ІтеуҺеҺҺҺ ојворо се-
МН . Rev Cub Med. 14: 2, 1975 .

**ИпоВOfIHJiacB H3yqeHjra ofIHoro CojiBHoro cTpaaxraero OT
reMoparuraeckoñ aHeMHH . KjmHiraeckHe H reMamroriiHeckHe aaHHae
CojiMoro a HX po,HC- B6HHHKOB II03BOJIH10T- yCTaHOBTb fiHarH03
60JI63HH 3a HBH . 3TO HBJIH6T- cH nepBOit cjiyaañ Ha Kyoe c TOKOY
naTOJlora . OtiyxflaiOTCH miHHHHeckHe noKa3aTejiH a reHeTinecKafi
nepenana <5ojie3HH .**

BIBLIOGRAFIA

1. —*Baglioni, C.* Correlation between genetics and chemistry of human Haemoglobins in "molecular genetics", H. Taylor (ed.) p. 405-475. Academic Press New York and London, 1963.
2. —*Weatherall, D.J.* The thalassaemia syndromes. BlackweU Scientific Publications, Oxford, 1965.
3. —*Fessas, P.* The heterogeneity of thalassaemia. XII Congress Int. Soc. of Haematology, pp. 90, New York, 1968.
4. —*Wasi, p. et al.* Haemoglobin H disease in thailand: A genetical study. Nature 204, 907-908, 1964.

1. —*Charache, S. and C.L. Conley.* Hereditary persistence of foetal hemoglobin. *Ann Ny Acad Sci* 165, 37-41 1969.
- De la Torre, E.* Comunicación personal.
- 7 —*Dade, J.F. and S.F Lewis.* *Practical haematology* 3rd. Ed. Churchill, London, 1966.
- 8.—*Betke, K. et al.* Estimation of small percentage of foetal haemoglobin. *Nature* 187, 1877, 1959.
- 9 —*Bernini, L. F.* Rapid determination of Hb As by DEAE cellulose chromatography. *Biochem Genet* 2, 305-308, 1969.
10. —*Smithies, O.* Characterization of genetic variants of blood proteins. *Vox Sang* 1, 359-362, 1965,
11. *Cartwright, G.E.* *Diagnostic laboratory hematology*, pp. 167, Grune and Stratton, New York and London, 1968.
- 12, —*Dacie J. F. et al.* Hereditary heinzbody anaemia. *Br J Haemat* 10, 388-402, 1964.
- 13 —*Baglioni, C.* An improved method for the fingerprinting of human haemoglobin. *Biochim Biophys Acta* 48. 392-395, 1961.
14. *Alessio, L. et al.* Unusual pattern of inheritance of haemoglobin H disease (family study and report of a case) *Scand J Haemat* 5, 454-457, 1968.
15. —*Kattamis, C.; Hayes, St.; Tjortjatou, F. and Lagos, P.* Haemoglobin H disease (Clinical and Laboratory data of 7 patients). *Ann Clin Ped Univ Atheniensis*: 15, 431-500 1968.
16. —*Kattamis, C. and H. Lehmann.* The genetical interpretation of haemoglobin H disease. *Human Heredity* 20, 156-164, 1970.