

Drepanocitosis: Evolución tecnológica y nuevos retos

Sickel cell Disease: Technological evolution and new challenges.

Francisco Hernández-Chavarría⁽¹⁾, Kimberline Segura⁽²⁾, Edgar Hernández⁽²⁾, Lisbeth Soto⁽²⁾ y Luis Rodolfo Chacón⁽²⁾

⁽¹⁾ Universidad de Costa Rica, profesor jubilado.

⁽²⁾ Laboratorio Clínico, Hospital San Vicente de Paul, Heredia, CCSS.

Correspondencia: franciscohernandezch@gmail.com

Resumen

La enfermedad de células falciformes se describió en las primeras décadas del siglo XX como una rara condición de salud que afectaba principalmente a pacientes afroamericanos; sin embargo, los estudios epidemiológicos identificaron su origen en África y el comercio de esclavos como la razón inicial de su dispersión. Esta fue la primera enfermedad molecular descrita y se debe a una mutación puntual de herencia mendeliana recesiva. En Costa Rica, su primer diagnóstico se realizó en 1966 y en la década siguiente se desarrolló su primer mapa epidemiológico, aunque estaba sesgado hacia las regiones con mayor población negra; condición que fue aclarada con el primer informe del Programa Nacional de Tamizaje Neonatal, que mostró una distribución más homogénea en el país, con una concentración de casos en el Valle Central. Hoy en día los análisis automatizados permiten la identificación de pacientes heterocigotos; otrora clasificados como asintomáticos, pero esa condición actualmente es cuestionada debido a las complicaciones de salud que sufren estas personas cuando se exponen a ejercicios intensos en condiciones climáticas drásticas. Por estas razones es importante estudiar esta nueva información que se genera diariamente en los laboratorios de la Caja Costarricense de Seguro Social.

Palabras clave: Anemia falciforme, enfermedad de células falciformes, drepanocitosis, hemoglobina S, HbS heterocigoto, HbS portador, tamizaje neonatal.

Abstract

Sickle cell disease was described in the first decades of the twentieth century, as a rare health condition affecting mainly Afro-American patients. Epidemiological studies traced its origin to Africa, with the slave trade emerging as the initial trigger for dispersal. It was the first molecular disease described and is caused by a point mutation of Mendelian recessive inheritance. The disease was diagnosed in Costa Rica in 1966, and the first epidemiological map was developed over the following decade. Although the map was biased toward the regions with the largest black population, this anomaly was cleared up in the first report of the National Neonatal Screening Program that showed a more homogeneous distribution throughout the country, with a concentration of cases in the Central Valley. Modern-day automated analysis now makes it possible to identify heterozygous patients. Although these people would have been classified as asymptomatic in the past, their status is now coming into question as they present health complications when subjected to intense physical exercise in extreme weather conditions. This new information coming to light through daily data-gathering in the laboratories of the Social Security in Costa Rica suggests that the matter now requires further study.

Key words: Sickle cell disease, drepanocytosis, Sickle cell trait, S hemoglobin, HbS-Heterozygous, Neonatal Screening.

En 1910 se publicó en Chicago la primera descripción de lo que en aquella época era un caso hematológico raro, se trataba de un muchacho negro, estudiante de odontología y proveniente de Granada, quien sufría un cuadro de anemia hemolítica y el reporte de su hemograma fue ilustrado con dibujos a mano alzada, que claramente evidencian la presencia de drepanocitos; el doctor James Herrick, autor de la publicación de marras, era un defensor del valor diagnóstico de los exámenes de laboratorio, entusiasmo que había contagiado a su asistente, el doctor Ernest Iron, quien realizó el examen de sangre e ilustró con sus dibujos (1).

Para el decenio subsiguiente se había publicado una serie de reportes que consolidaban esos hallazgos como una nueva entidad clínica, que se vislumbraba como una enfermedad que seguía las leyes de herencia mendeliana, a la que ya se le había dado el nombre de enfermedad de células falciformes (*Sickle cell disease*), debido a la forma de hoz de los eritrocitos, de cuyo nombre en inglés derivan los anglicismos de “sicklosis” o “enfermedad de células sicklicas”, con los cuales se llegó a describir en español tal entidad. En esta entidad clínica el término “Enfermedad” es más amplio y comprensivo que “Anemia”, debido a la amplia gama de trastornos y síntomas que la caracterizan. Equivocadamente se asumió que se trataba de un gen dominante y que era exclusivo de raza negra, aunque en un principio muy remoto esa aseveración fue cierta, pues la enfermedad en cuestión se originó en África unos 8000 años antes.

La observación del incremento en el porcentaje de drepanocitos *in vitro*, cuando las muestras de sangre se dejaban en reposo, constituye el primer método diagnóstico; la prueba consistía en dejar en reposo una muestra de la sangre colocada entre lámina y laminilla, con los bordes sellados con petrolato y hacer observaciones periódicas al microscopio durante 48 a 72 horas, para observar el aumento de formas falciformes (2). En un intento por aumentar el consumo de oxígeno en la muestra se recurrió a mezclarla con suspensiones fecales, adicionar *Bacillus subtilis* o saturar la muestra con CO₂; sin embargo, el empleo de sustancias reductoras fue más práctico y la elegida finalmente fue el metabisulfito de sodio (3); en ese sentido se publican al menos dos artículos que describen el método y lo catalogan como “rápido”; el primero fue Dalang y Castle en 1948 (4) y luego Itano y Pauling en 1949 (5), quienes hacen referencia a una nota en Science de un método similar. El método “rápido” en cuestión, que en tan solo 15 minutos permitía el diagnóstico, consistía en adicionar una gota de metabisulfito de sodio a una muestra de sangre y observarla entre lámina y laminilla.

Luego de la Segunda Guerra Mundial, EEUU la nación que había acelerado el final de esa guerra gracias a la bomba atómica, se consolida como una potencia mundial y comienza a sentar las bases de la investigación científica en tiempos de paz, dando apoyo y redefiniendo la investigación básica. En este contexto se realiza un evento en Chicago, en 1945, que culmina con la presentación del informe: “*Science: the endless frontier*”¹ (6), al cual se invitó a una serie de científicos destacados, entre los que figuraban William Castle y Linus Pauling, un médico hematólogo y un bioquímico, respectivamente. La serendipia hace su aparición y en esta ocasión fue la coincidencia de ambos científicos en el mismo vagón del tren que los lleva de regreso a Denver, luego de aquel evento y en la conversación surgieron los temas de sus investigaciones, Castle comentó sus observaciones de que la sangre de los pacientes con drepanocitosis, al someterla a bajas tensiones de oxígeno incrementaba la transformación de los eritrocitos normales a las formas falciformes y que mostraban birrefringencia al microscopio al iluminarlas con luz polarizada... y Pauling pensó al respecto que el problema radicaba exclusivamente en la molécula de hemoglobina, lo que confirmó mediante el estudio electroforético con 15 personas, ocho drepanocíticas y siete normales, en el que mostraba que ambas hemoglobinas tenían carga diferente; la publicación de esos resultados se hizo en 1949 bajo el título “*Sickle cell anemia: A molecular disease*” (7)². En 1957 Ingrand (8) publicaba el hallazgo de la alteración responsable de esa enfermedad; su trabajo inició con una digestión de la hemoglobina con tripsina, para someter los péptidos liberados a electroforesis en papel en una dirección y luego una cromatografía en otra dirección, para obtener una serie

¹ *Science: the endless frontier* parafraseado como “*Space: the final frontier...*” en la serie de televisión *Star Trek*.

² Linus Pauling recibió el premio Nobel en 1954 por su trabajo en la química de los enlaces moleculares y en 1962 el Nobel de la paz por su activismo en contra de las pruebas nucleares.

de manchas que denominó “huellas digitales”, las manchas eran tan tenues que él comentó que era como analizar una acuarela que había sido dejada bajo la lluvia (9). De ese patrón de manchas solo la correspondiente al péptido número 4 mostraba un cambio entre la hemoglobina normal y la de pacientes enfermos; así que recortó y eluyó el péptido, para someterlo a un análisis cualitativo de aminoácidos mediante cromatografía; para concluir que solo uno de los casi 300 aminoácidos de la molécula era el responsable de la enfermedad, un ácido glutámico era sustituido por una valina.

La electroforesis se convirtió en la principal técnica diagnóstica para identificar las hemoglobinas anormales, y a medianos del siglo pasado se depuran los métodos y una de las opciones que resultó muy exitosa fue la utilización de papel como sustrato (10), lo que permitió la identificación de cerca de 200 variedades, donde sobre sale el trabajo del doctor Hermann Lehmann quien identificó más de 81 de esas hemoglobinas (11).

Retornando a la línea histórica del desarrollo tecnológico en la enfermedad de células falciformes o drepanocitosis es importante el impulso dado a los programas de tamizaje, cuando el presidente Richard Nixon, EEUU, promulgó en 1972 una ley para el control de la anemia falciforme, siendo el primer trastorno hereditario cobijado por una ley y por lo tanto dotado de fondos para su investigación³; no obstante, fue hasta 1987 que hubo un consenso para que los análisis se hicieran a todos los neonatos sin distinciones de razas o zonas geográficas (12). Actualmente los programas de tamizaje nacionales o por regiones en diferentes países van consolidándose cada vez más; así a escala nacional en América Latina se han instaurado en Costa Rica, Brasil (13) y Cuba (14); a parte de ello se tienen datos por regiones de otros países, como Venezuela, México, Colombia (14) y de algunas islas del Caribe, donde sobresalen los programas de Jamaica que han marcado un verdadero derrotero en el manejo de la enfermedad; pues demostraron que el diagnóstico neonatal de la drepanocitosis permite intervenciones tempranas que elevan las expectativas de vida superiores a los 40 años (15), lo cual era impensable hace unas cuantas décadas.

Los primeros aportes a la historia de la anemia falciforme en Costa Rica, iniciaron con la identificación del primer caso en 1966, en una familia de Guanacaste (16), lo que orientó la investigación hacia esa provincia o bien hacia el caribe, siguiendo el razonamiento de que los casos se concentrarían en los territorios con más habitantes de raza negra, lo que efectivamente mostró una prevalencia de 3,45% para Limón y un 3,16% para el Pacífico Norte, contrastando con solo el 0,13% en el Valle Central (17); o bien, el estudio de 621 individuos de raza negra del centro de Limón, mostró una prevalencia del 8,2%, aunque no se definen los criterios de selección muestra, por lo que podría existir un sesgo de muestreo, ya que podría tratarse de pacientes atendidos en el hospital y por lo tanto, habrían acudido a la consulta por algún problema de salud, que no descarta la sintomatología de la drepanocitosis (18). En un lapso de 35 años esa proyección epidemiológica cambió

³ <https://www.presidency.ucsb.edu/documents/statement-signing-the-national-sickle-cell-anemia-control-act>

drásticamente, como demuestran los primeros resultados publicados del programa de tamizaje neonatal, con la salvedad de que el estudio involucra casi a la totalidad de neonatos del país, de octubre 2005 a octubre 2006 y por lo tanto, este estudio está libre de los sesgos de muestreo de los estudios anteriores; el nuevo patrón epidemiológico de la drepanocitosis revela que la mayoría de los casos se concentra en el Valle Central y que la prevalencia en San José fue de 27,3%, en tanto para Guanacaste y Limón fue de 18,8% y 16,5%, respectivamente (19). La explicación de tal hallazgo es la confluencia de dos vertientes sociales; en primer lugar la población negra que entró al país en la época de la colonia desapareció, absorbida por el resto de la población, pues al irse mezclando en un lapso de 500 años, queda relegada a solo representar un porcentaje del genotipo del costarricense actual, que corresponde a un 49,2% de origen europeo, un 37,8% de nativo y un 12,9% africano (20); y por lo tanto, indirectamente los datos de prevalencia de drepanocitosis del estudio de Abarca et al (19), son un fiel reflejo de esa mezcla étnica costarricense. La otra vertiente social que explica la concentración de casos en el Valle Central, es la migración del campo hacia la ciudad, que se incrementó a partir de la década de 1980 (21).

Conclusión

Los mayores aportes al estudio de la drepanocitosis en Costa Rica se realizaron en la década de 1970, cuando la opción diagnóstica en boga era la prueba de solubilidad de la hemoglobina y la confirmación se hacía mediante electroforesis, ya fuese en geles de agarosa, acetato de celulos o papel (22); en aquella época, esas técnicas de electroforesis eran el punto culminante de la investigación en el laboratorio clínico e implicaban tareas manuales delicadas como chorrear los geles, asegurarse que no quedaran burbujas, insertar separadores para que al solidificar quedaran las muescas para colocar la muestra, preparar las soluciones amortiguadoras, en fin, eran metodologías engorrosas y que demandaban mucho trabajo y habilidad. Hoy, gracias al avance tecnológico y la miniaturización de equipos en la tendencia catalogada como “un laboratorio en un chip”, se tiene un acceso rápido a diagnósticos otrora impensables y la drepanocitosis no es la excepción a esos avances tecnológicos; por ejemplo, los equipos automatizados actuales de la Caja Costarricense de Seguro Social para cuantificar la hemoglobina glicosilada, tienen como un *adendum* a ese programa, la identificación de hemoglobinas anormales, y entre ellas figura la hemoglobina S (HbS); por lo tanto, en este momento es posible identificar los adultos heterocigotos, que obviamente han escapando de los programas de tamizaje neonatal establecidos en el país en el 2005. Esta información permite redefinir los lineamientos epidemiológicos de la drepanocitosis en el país o analizar condiciones más sutiles, como la posible repercusión en la salud de la presencia heterocigota de HbS, otrora considerada solo en el consejo genético, pero que en los últimos años se ha asociado con problemas de salud importantes en individuos expuestos a ejercicio extenuante en condiciones ambientales

drásticas, como ha sido el caso de reclutas militares o deportistas que han sufrido muerte súbita (23), lo que cuestiona la vieja denominación de asintomático con que se referían a los heterocigotas HbS/HbA (24). Cabe preguntarse como se comportan en nuestro medio esos pacientes en Guanacaste o en las regiones costeras, ya se trate de trabajadores agrícolas o deportistas profesionales, cuya labor los expone a temperaturas altas y deshidratación; ¿qué influencia tiene la presencia de HbS en los casos de insuficiencia renal? ¿deberían someterse a análisis los jugadores de fútbol o sería este un factor más para evitar la programación de encuentros deportivos al medio día?; en fin, la nueva información disponible abre muchas opciones de investigación que es preciso explorar para mejorar la calidad de vida y prevenir complicaciones importantes.

Bibliografía

1. Serjeant GR. (2001). The emerging understanding of sickle cell disease. *Brit J Haematol.* 2001; 112: 3-18. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2141.2001.02557.x>
2. Scriver JB, Waugh TR. Studies on a case of sickle cell anemia. *Can Med Assoc J.* 1930; 23:375-380.
3. Mickler EE, Diggs LW. The Detection of the Sickle Cell Trait: A Comparison of the Sealed Moist Preparation using Capillary Blood Collected during Venous Stasis and the Sodium Bisulfite Method. *Amer J Clin Path.* 1950; 20(9): 861-4.
4. Daland GA, Castle WB. A Simple and Rapid Method for demonstrating Sickling of the Red Blood Cells : the Use of Reducing Agents. *J Lab Clin Med.* 1948; 33(9): 1082-8.
5. Itano HA, Pauling L. A rapid diagnostic test for sickle cell anemia. *J. Hematol.* 1949; IV(1): 66-68.
6. Pieke Jr R. 2010. In retrospect: Science -The endless frontier. *Nature* 2010; 466: 922-923.
7. Pauling L. Sickle cell disease: A molecular disease. *Science* 1959; 110(2865): 543-548.
8. Ingram VM. Gene mutations in human haemoglobin: the chemical difference between normal and sickle cell haemoglobin. *Nature* 1957;180: 326–328.
9. Wearherall DJ. Towards molecular medicine; reminiscences of the haemoglobin field, 1960–2000. *B J Haemoglobin.* 2001; 115: 721-38.
10. Larson DL, Ranney HM. Filter paper electrophoresis of human hemoglobin. *J. Clin Invest.* 1953; 32(11): 1070-6.
11. Dacie S. Hermann Lehmann. 8 July 1910-13 July 1985. *Biograph. Mem. Fell Roy Soc.* 1988; 34: 406- 449.
12. Naik RP, Haywood C Jr. Sickle cell trait diagnosis: clinical and social implications *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2015; 5(1): 160–167. doi:10.1182/asheducation-2015.1.160.

13. Huttle A, Maestre GE, Lantigua R, et al. Sickle cell in Latin America and the United States [corrected]. *Pediatr Blood Cancer*. 2015; 62 (7):1131–1136.
14. Granda H, Gispert S, Dorticós A, Martín A, Cuadras Y, Calvo M, Martínez G, Zayas MA, Oliva JA, Heredero L. Cuban program for prevention of sickle cell disease. *Lancet* 1991; 337(8734): 152-3.
15. King L, Fraser R, Forbes M, Grindley M, Ali S, Reid M. Newborn sickle cell disease screening: the Jamaican experience (1995-2006). *J Med Screen*. 2007; 14: 117–122.
16. Elizondo J, Solano L. Hemoglobina S-C. Estudio de una familia costarricense. *Acta Med. Cost.* 1965; 8(1): 15-22.
17. Elizondo J & Zomer M. Hemoglobinas anormales en la población asegurada costarricense. *Acta Med Costarricense*. 1970; 13: 249-255.
18. Sáenz GF, Gutiérrez A, Brilla E, Arroyo G, Barrenechea M, Valenciano E, Jiménez J. Investigación de hemoglobinas anormales en población de raza negra costarricense. *Rev Biol. Trop.* 1971; 19(1): 251-256.
19. Abarca G, Navarrete M, Trejos R, de Céspedes C, Saborío M. Hemoglobinas anormales en población de Costa Rica. *Rev Biol Trop.* 2008; 56(3): 995-1001.
20. Campos-Sánchez R, Raventós H, Barrantes R. Ancestry Informative Markers Clarify & Regional Admixture Variation In & Costa Rican Population. *Human Biology Open Access Pre-Prints*. 2013. Paper 34. [h=p://digitalcommons.wayne.edu/humbiol_preprints/34](http://digitalcommons.wayne.edu/humbiol_preprints/34)
21. Molina-Jiménez I. Costarricense por dicha. Identidad nacional y cambio cultrual en la Costa Rica durante los siglos XIX y XX. Ed. UCR. 2015, 170p.
22. Jiménez R, Saénz GF, Altmella A, Alvarado MA, Estudio Comparativo de métodos para el diagnóstico de la drepanocitosis. *Acta Med Cost.* 1974; 17(3): 193-196.
23. Connes P, Reid H, Hardy-Dessources M, Morrison E, Hue O. Physiological responses of sickle cell trait carriers during exercise. *Sports Med* 2008; 38 (11): 931-946.
24. Key, N. S., Derebail, V. K. Sickle-cell trait: novel clinical significance. *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program* 2010, 418–422.