

Drepanocitosis: reseña de un siglo de investigación

Sickle Cell Disease: Review of a Century Research

*Francisco Hernández-Chavarría*¹

¹Profesor jubilado, Facultad de Microbiología, Centro de Investigación en Estructuras Microscópicas, Universidad de Costa Rica, Costa Rica.

Correspondencia: francischohernandezch@gmail.com

Recibido: 15/08/2022; aceptado para publicación: 28/08/2022.

Resumen

El objetivo de este trabajo es brindar una visión del desarrollo científico y tecnológico de la anemia falciforme desde su primera descripción a principios del siglo XX hasta los retos actuales. Esta se trata de una enfermedad asociada a una compleja nebulosa de síntomas, cuyo hallazgo patognomónico son los eritrocitos en forma de hoz. La interpretación errónea de los primeros hallazgos condujo a sospechar que se trataba de una enfermedad exclusiva de afrodescendientes y que se transmitía como herencia dominante mendeliana; sin embargo, es recesiva, pero constituye una de las hemoglobinopatías de mayor prevalencia mundial. Descrita en la década de 1940 como la primera enfermedad molecular, causada por una mutación puntual que conduce a la sustitución de un aminoácido en la molécula de globina. Dos de los hallazgos más importantes en esta enfermedad son el tratamiento exitoso de las crisis de dolor empleando hidroxiurea y el hecho de que intervenciones simples, como el consejo genético, la vacunación contra *Haemophilus influenzae* y la antibioterapia preventiva, entre otros, permiten expectativas de vida que exceden los 50 años, y eso es posible cuando se realiza el diagnóstico en el recién nacido, lo que justifica los programas de tamizaje neonatal. Como conclusión, la ciencia médica actualmente tiene como reto la cura de la drepanocitosis, y el trasplante de médula ósea se ha confirmado como una opción real; adicionalmente, es posible que la modificación genética de células madre sea la estrategia futura.

Palabras clave

Hemoglobina S, anemia de células falciformes, drepanocitosis, hemoglobinopatías, tamizaje neonatal.

Abstract

The aim of this paper is to provide a vision of the scientific development of Sickle cell anemia since its early descriptions at the beginning of 20th century to the current challenge. This disease is associated with a complexity of symptoms, in which the sickle-shaped erythrocytes is a pathognomonic laboratory finding. Misinterpretation of the first findings led to suppose that it was exclusively of Afro-descendants and transmitted as a

dominant Mendelian inheritance; however, it is recessive, and it is one of the most worldwide prevalent hemoglobinopathies. It was described in the 1940s as the first molecular disease, caused by a punctual mutation leading to a substitution of an amino acid in the globin molecule. The most important findings in this disease are the successful pain relief crises using hydroxyurea, and the fact that simple interventions, such as genetic counseling, vaccination against *Haemophylus influenzae*, and preventive antibiotic therapy, among others, allows a life expectancy over 50 years. That is possible when the disease is diagnosed in newborns, so, it justifies the neonatal screening programs. As conclusion, the new challenge is the cure and bone marrow transplantation which represent a god option; also, it is possible that genetic modification of stem cells could be a future strategy.

Keywords

Hemoglobin S, sickle cell disease, sickle cell anemia, hemoglobinopathies, neonatal screening.

Introducción

La drepanocitosis o enfermedad de células falciformes se debe a una mutación puntual de herencia recesiva, asociada a la presencia de hemoglobina S (HbS). En la expresión homocigota (HbSS) el paciente sufre una patología muy diversa, cuyo síndrome patognomónico es la anemia falciforme; en tanto que los casos heterocigotos (HbSA) hasta hace unos pocos años eran considerados asintomáticos. La información resumida en estas líneas introductorias es el producto de los primeros 40 años de investigación en esta enfermedad y en este texto se pretende hacer un recorrido histórico por los hechos más relevantes que develaron esta patología. Sin embargo, antes de abocarnos a la sinopsis histórica es importante conocer algo más de los lineamientos de tal enfermedad.

Origen de la drepanocitosis

El origen de esta mutación se ha trazado genéticamente y se le ubica en distintos puntos de África e India o Península Arábiga. Los primeros indicios señalan su aparición en África hace unos 7 000 años y 2 000 años más tarde de que las migraciones humanas iniciaron su expansión hacia otros territorios (1); pero fue la trata de esclavos la mayor

impulsora de esa dispersión, que incluso la trajo a América en los albores de la conquista europea (2).

Etimología de la drepanocitosis

Otros sinónimos para esta enfermedad son el de anemia falciforme, enfermedad de células falciformes, o bien los anglicismos sicklosis o enfermedad de células sicklicas, con los cuales también se le ha denominado en español. Esos nombres derivan de los vocablos *drepanon*, *falcs* y *sickle*, términos del griego, latín e inglés respectivamente, que significan hoz, y que aluden a la deformación característica que adoptan los eritrocitos en esta patología. De hecho, la denominación de hemoglobina S, derivó de la descripción en inglés de la enfermedad: “*Sickle-cell disease*”.

La HbS sometida a bajas tensiones de oxígeno se polimeriza formando cadenas largas que deforman el eritrocito, obligándolo a adoptar esa forma característica de hoz, responsable del hallazgo más relevante de esta patología, que es la anemia falciforme.

Un vistazo somero a la fisiopatología de la drepanocitosis

La deformación de los eritrocitos causada por la presencia de HbS altera el flujo de la sangre en el lecho capilar, provocando congestión, inflamación del endotelio y liberación de linfoquinas, que desencadenan una gama muy amplia de patologías, cuyo síntoma más evidente es la anemia hemolítica; pero la nebulosa clínica de esta enfermedad incluye otros padecimientos graves, desde crisis de dolor intenso, úlceras dérmicas en extremidades, alteraciones en médula ósea y fallo de distintos órganos debidos a isquemia; uno de los más relevantes es la atrofia esplénica, que secundariamente se asocia a infecciones bacterianas, que en muchas ocasiones es la causa de muerte temprana (3).

Hasta mediados del siglo XX, la mortalidad infantil asociada a la drepanocitosis era tan alta que los primeros estudios epidemiológicos realizados en África inclinaban la balanza hacia una condición de herencia mendeliana dominante, pues no se encontraban pacientes homocigotas y la razón era que los niños homocigotas, o sea HbSS, morían en los primeros años de la vida; por lo que los estudios de campo no detectaban adultos con tal condición. Su impacto es de tal magnitud que aún hoy día en las tribus más afectadas, por ejemplo, en Nigeria, se atribuye la muerte temprana de los niños a un espíritu maligno, *Ogbanje*. Según sus creencias, una vez que muere el niño, el espíritu maligno permanece al acecho para reencarnar en el próximo hijo, y así, se repite un ciclo de vida de dolor y muerte, que reinicia con cada nuevo embarazo (4).

Mientras en el África subsahariana muchos de los casos de HbSS no llegan a los cinco años de vida (5), en Jamaica el panorama es totalmente diferente gracias al diagnóstico temprano y manejo de los enfermos, lo que se traduce en expectativas de vida que oscilan entre los 53 años para hombres y los 58 años en mujeres (6), lo que justifica los esfuerzos para el diagnóstico temprano de la enfermedad mediante programas de tamizaje neonatal.

El mapa epidemiológico de la drepanocitosis

En el África subsahariana, se calculan unos 200 000 casos anuales (7), pero paradójicamente, las mejoras en la salud, el control de la malaria, una mejor nutrición y depuración de medidas higiénicas, conducen a un aumento en la sobrevivencia de los pacientes, que aunado a una alta tasa de fertilidad en esa región, se traduce en un incremento de la prevalencia de drepanocitosis (8, 9); proyectándose que para el año 2050 habría unos 400 000 casos en el África subsahariana (10). El segundo lugar en prevalencia lo ostentan las islas del Caribe, con cifras que oscilan entre el 10 y el 15%, con excepción

de Cuba, con un 3,1% (11). El panorama mundial revela que la enfermedad se extiende hacia nuevos territorios, como está ocurriendo en el norte de Europa, debido a los migrantes africanos que buscan refugio presionados por condiciones políticas y sociales (3).

Una sinopsis de cien años

La breve descripción anterior de la drepanocitosis pretende motivar la lectura de un recorrido por los hallazgos más relevantes en 100 años de investigación, partiendo del informe del primer caso, publicado en 1910. Esta secuencia de hechos ilustra el progreso biomédico, cuyo avance sigue en pleno desarrollo, tal como reseñaron Sergeant (12) y Felman & Tauber (13) en sus respectivas visiones históricas de esta enfermedad y que constituyen la línea conductiva del presente trabajo.

1904-1910: las primeras nociones de la enfermedad

El primer hallazgo documentado de lo que hoy conocemos como drepanocitosis ocurrió en 1904. En esa ocasión la casualidad o más atinadamente, la serendipia, hizo su primera incursión en esta historia. El evento descrito ocurrió en una práctica de laboratorio, en la cual los estudiantes de medicina se pinchaban el dedo para hacer extendidos de sangre y analizarlos al microscopio, para describir sus propios elementos sanguíneos, los cuales debían ilustrar con los respectivos dibujos. Todo transcurría con normalidad hasta que el asistente de la práctica, el señor Seymour, se detuvo ante los dibujos de un estudiante mulato que dibujaba estructuras elipsoidales; al observar al microscopio confirmó que los dibujos que hacía ese muchacho realmente correspondían a sus eritrocitos. Se hizo una serie de preparaciones adicionales de su sangre, que fueron analizadas por diferentes

personas, quienes confirmaban el hallazgo y constataron que involucraba a cerca del 90% de los eritrocitos (14). Ante las dudas de que se trataba de un artificio de laboratorio, se le consultó al doctor Ehrlich, quien sugirió que eran estructuras propias de la sangre de ese estudiante, pero no se emitió ningún juicio sobre la posible relación con alguna enfermedad; sin embargo, el estudiante de marras murió un año más tarde de un infarto, que no se asoció a sus eritrocitos elipsoidales (15); por lo que ese hallazgo solo quedó constatado como una curiosidad.

Seis años más tarde, en Chicago, nuevamente un matiz de serendipia ilumina el reporte del primer caso diagnosticado de drepanocitosis; en esta ocasión se trató de un estudiante negro de odontología, proveniente de Granada y que padecía un cuadro de anemia hemolítica, con una serie compleja de síntomas, que en aquel momento no se relacionaron, pero que hoy ilustran un caso típico de esa enfermedad. El paciente fue admitido en el Hospital Presbiteriano de Chicago y aquí la casualidad fue que el médico que le atendió (Dr. James Herrick) y su asistente (Dr. Ernest Irons) eran fervientes defensores de los análisis de laboratorio como ayuda clínica. Cabe mencionar que en esos años los análisis de laboratorio no tenían un papel medular en la hematología. Sin embargo, el reporte del hemograma de este paciente, realizado por el Dr. Irons, fue ilustrado con los dibujos de los eritrocitos alargados en forma de media luna, lo que hoy se define como drepanocitos; lo cual no deja duda del diagnóstico clínico de ese primer caso, que fue publicado por Herrick en 1910.

1922: anemia de células falciformes

Luego de cuatro casos publicados, en 1922 el Dr. Mason acuñó el término “*Sickle cells*”, que en español sería “células falciformes”, para referirse a la deformación de los

eritrocitos que caracterizaban la nueva enfermedad y debido a que los cinco casos descritos hasta ese momento eran negros, concluyó que era una enfermedad propia de descendientes africanos y descarta que se tratara de un síndrome secundario de sífilis o de alguna parasitosis desconocida (16).

1923-1933: hipótesis de enfermedad hereditaria

Los hallazgos de un estudio epidemiológico sobre la drepanocitosis realizado por Huck en 1923, que incluía el árbol familiar de dos casos, le permitieron postular que se trataba de una enfermedad hereditaria, tipo mendeliano, similar a la hemofilia, pero que afectaba a ambos sexos y supuso que era dominante. Bajo esta nueva premisa cambia el panorama que se tenía de esta enfermedad, al suponer, equivocadamente, que era un carácter hereditario dominante, lo que complicaría, al menos por un tiempo la comprensión sobre la enfermedad, pues los pacientes heterocigotos representaban una incógnita clínica, que condujo al concepto, un tanto erróneo, de que la enfermedad tenía una manifestación latente, o sea asintomática y otra activa (17).

El primer caso fuera de EEUU, y que corresponde a una niña de 7 años, fue reportado por Scriver y Waugh en 1930, en Canadá; este informe es particularmente importante por las pruebas de laboratorio realizadas, que permitían relacionar la falta de oxígeno con la inducción de los drepanocitos y que tal alteración era reversible una vez que se reoxigenaba la sangre. Estos investigadores corroboraron ese hallazgo tanto *in vitro* como *in vivo*; para la primera condición pusieron muestras de sangre entre lámina y laminilla y las sellaron con petrolato, las que fueron analizadas de inmediato y cada 24 horas por tres días, observando como con el transcurso del tiempo aumentaba la cantidad de drepanocitos, lo cual conducía a un primer método diagnóstico *in vitro*. Para la evaluación

in vivo indujeron estasis sanguíneo mediante torniquete o vendajes y observaron también el aumento de eritrocitos alterados; sin embargo, la conclusión final de su artículo es errada al señalar que se tratada de una condición propia de los eritrocitos, atribuida a un carácter mendeliano dominante exclusivo de raza negra, con lo que se asume que la presencia de drepanocitos era sinónimo de enfermedad (18).

1933-1951: la hipótesis homocigota/heterocigota

Parte de la problemática relacionada con la presentación de una forma clínica y otra latente para esta enfermedad, se comienza a despejar en 1933, con el trabajo de Diggs y colaboradores, quienes evalúan una muestra de 3 213 personas de raza negra y 309 de raza blanca, cuyas muestras se sometieron al análisis mediante el método de laminillas selladas. En el 8,3% de los individuos de raza negra se formaban los drepanocitos, pero se trataba de personas sanas y entre ellos figuraba un niño prematuro y un anciano de 99 años. Por otra parte, no encontró un solo caso en las personas blancas. La ausencia de enfermedad en los individuos positivos por la presencia de drepanocitos los conduce a acuñar el término de portadores (19); pero sigue la controversia entre enfermedad y la condición de portadores, que sería dilucidada por Neel en 1947, mediante una revisión de la literatura existente hasta ese momento y en sus propias observaciones respecto a análisis familiares, que incluyen el estudio de 11 121 individuos afroamericanos, en los cuales encuentra que el 7,48% son portadores de drepanocitosis, frente a un 19,9% en población africana (20). Posteriormente, el análisis de los padres de 19 casos le permite concluir que se trata de una enfermedad hereditaria recesiva y que solo los individuos homocigotos manifestaban el cuadro clínico; pero se sigue manteniendo hasta ese año, que la enfermedad es exclusiva de raza negra (21).

Sin embargo, los estudios de campo para confirmar la hipótesis de que solo los homocigotas padecían la enfermedad, chocaba con la ausencia de casos clínicos en las comunidades africanas estudiadas, en las cuales, pese a que mostraban una prevalencia alta de portadores, no había casos clínicos. La razón, como ya se había mencionado previamente, era que los niños homocigotos, o sea los enfermos, morían antes de cumplir los cinco años, como demostró un equipo de investigación en la tribu Luo en Kenya (22); lo que luego fue corroborado repetidamente, con lo cual se confirmaba la hipótesis de que la enfermedad aparecía solo en los individuos homocigotas y que el cuadro clínico conducía a la muerte temprana.

1949: de cómo una charla condujo a definir una enfermedad molecular

Un encuentro fortuito entre dos investigadores y la narración informal de hallazgos de laboratorio, condujo a despertar el interés y la idea para un abordaje diferente de un problema. Ese parece haber sido el desenlace en la conversación que sostuvieron William Castle y Linus Pauling, en 1945, mientras departían en el vagón en un tren de regreso de Denver, luego de asistir a un evento científico en Chicago, en el que se discutía el papel de la ciencia en tiempos de paz (13). El hecho ha sido tratado bajo distintas perspectivas (8, 23-25); pero en esencia, se centra en la narración que hiciera Castle, sobre sus observaciones respecto a la birrefringencia de la sangre de pacientes con anemia falciforme, cuando era observada al microscopio con luz polarizada, lo que le hizo suponer a Pauling que la alteración residía no en el eritrocito en sí, sino en la molécula de hemoglobina y esa fue la orientación que daría a su investigación, en la cual, la electroforesis mostró que se trataba de una hemoglobina diferente de la normal y que le llevaría a describir a la drepanocitosis como la primera enfermedad molecular (26).

Un comentario adicional, fuera de contexto, sobre Castle: cuando él cursaba su segundo año de medicina perdió el examen de hematología; sin embargo, posteriormente esa fue su especialidad y a la cual hizo grandes aportes, que incluyen desde la resolución de problemas como la anemia perniciosa, anemias hemolíticas e incluso el método diagnóstico rápido para drepanocitosis, empleando metabisulfito de sodio como agente reductor, para acelerar la aparición de células falciformes; lo que permitía un diagnóstico en 15 minutos, en contraposición a la observación por tres días de laminillas selladas, que era el método existente en aquel momento (27).

1950: una década para las hemoglobinopatías

Prácticamente diez años después de que Pauling definiera la anemia falciforme como una enfermedad molecular, Ingram, gracias a la técnica de “huellas digitales”, que combinaba electroforesis y cromatografía, confirmaba en 1956, que la diferencia entre la hemoglobina A (normal) y la hemoglobina S, de los pacientes drepanocíticos, era tan sutil, que radicaba en solo un pequeño péptido, y predijo que posiblemente se debía a la sustitución de un aminoácido; lo cual confirmó un año más tarde mediante la secuenciación de aminoácidos, que mostró la hoy clásica sustitución de un ácido glutámico por una valina en la HbS (28).

Las nuevas tecnologías promovieron una verdadera avalancha en la investigación de variantes de hemoglobinas en las décadas de 1950-60; el término variantes de hemoglobina se prefiere al de hemoglobinas anormales, pues la mayoría de esas hemoglobinas alteradas no está asociada a enfermedad o solo con anemias leves (29). En ese contexto de investigación surge la figura del Dr. Hermann Lehmann (1910-1985), con una relevancia trascendental, pues su equipo de investigación describió 81 “nuevas

hemoglobinas”, que correspondía a prácticamente la tercera parte de todas las hemoglobinas anormales descritas en el mundo hasta esa época (30). Las comillas que enmarcan las “nuevas hemoglobinas”, se deben a que en sus inicios las descripciones calificadas de novedad se debían solo al hecho de que las moléculas presentaban alteraciones detectadas con las técnicas de huellas digitales; pero la abundancia de reportes con muestras de sangre de diferentes partes del mundo, con una taxonomía que inicialmente utilizaba las letras del alfabeto y luego de la abundancia de nuevas variedades obligó a cambiar el sistema de nomenclatura y se recurrió a la toponimia, haciendo alusión al lugar del hallazgo. Pero la verdadera autenticidad de esas nuevas hemoglobinas debía esperar por la secuenciación de aminoácidos, como se concretó en 27 de las variantes descritas por Lehmann, en las cuales se demostraba que la diferencia radicaba en la sustitución de un aminoácido (31).

El interés de Lehmann en la anemia falciforme nació al observar la alta prevalencia en nativos de Uganda, donde laboró por tres años como médico investigador del ejército inglés; años más tarde, en la India, volvería a encontrar otra población con una alta prevalencia y que en apariencia no se relacionaba con la migración africana, lo que conduciría a identificar el otro sitio donde ocurrió la mutación que originó la drepanocitosis, hoy asociada a la India o Península Arábiga y conocida como Arab/Hundu.

1995: cuando se venció el dolor

Las crisis de dolor o crisis vaso oclusivas constituyen una de las principales causas de internamiento de los pacientes drepanocíticos; por lo tanto, el alivio de ese dolor mediante un tratamiento específico ha sido uno de los grandes logros en estos 100 años de investigación. Ese hallazgo se sustenta en observaciones aparentemente no relacionadas,

que pueden rastrearse desde la década de 1940, asociadas a la presencia de hemoglobina fetal (HbF). Una de esas observaciones pioneras fue el retardo en las pruebas para evaluar la formación de drepanocitos *in vitro*; recordemos que previo al empleo de agentes reductores como el metabisulfito de sodio para promover la formación de drepanocitos (27), el diagnóstico se hacía colocando una gota de sangre entre lámina y laminilla y sellando los bordes con petrolato para evitar la oxigenación de la muestra; con este sistema la sangre de un paciente drepanocítico en 24 horas ya mostraba casi un 100% de eritrocitos alterados, pero cuando se trataba de recién nacidos, ese periodo se extendía a 48 horas y no era tan evidente como en sus madres; además no había evidencias patológicas en autopsias de recién nacidos, ni evidencias intrauterinas de drepanocitosis, lo que se asoció a que la presencia de hemoglobina fetal estaba involucrada en esos efectos (32).

En 1960, se reportó que los pacientes drepanocíticos que presentaban altos niveles de HbF, eran asintomáticos o presentaban síntomas muy leves; tal condición se debía a que paralelamente a su hemoglobinopatía manejaban otro problema hereditario (persistencia pancelular hereditaria de HbF), cuya prevalencia es alta en Arabia Saudí; lo que reforzaba la hipótesis de que la HbF tenía un efecto beneficioso en la drepanocitosis y abría un nuevo frente para su tratamiento.

Por otra parte, las diferencias en el espectro clínico asociado a los distintos haplotipos de la HbS, se debía a la presencia de HbF; así, el haplotipo Bantú, el más severo presenta la menor concentración de HbF y lo contrario ocurre con los haplotipos Senegal y Arab/Hundu, que conviven con un nivel relativamente alto de HbF y por lo tanto, en esos pacientes los síntomas son más leves; por otra parte, el haplotipo Bening ocupa una posición intermedia, para ambos parámetros, HbF y sintomatología; lo que reforzaba la

hipótesis de que la presencia de HbF se asocia a la baja severidad de la enfermedad en los distintos haplotipos de la HbS (33).

En otro contexto, una investigación en monos demostró que la 5-azacytidina (5-Aza), una droga utilizada en la quimioterapia del cáncer, aumentaba la concentración de HbF (34). Ante tal descubrimiento se realizó un estudio controlado con nueve pacientes HbSS, sometidos al 5-Aza, pero la respuesta fue heterogénea, aunque la mayoría mostraban una elevación en la concentración de HbF (35). El empleo de la 5-Aza se dejó de lado debido a su alta toxicidad y al hallazgo de la hidroxiurea (HU), una droga menos tóxica, empleada en el tratamiento de la policitemia vera, que también aumentaba la HbF; por lo que se inclinó la balanza hacia esta nueva opción de tratamiento (36).

La evaluación de la HU continuó recabando información valiosa mediante estudios longitudinales; pues se debía sopesar su beneficio contra posibles efectos adversos. Un estudio preliminar con 32 pacientes, algunos de los cuales continuaron el tratamiento por dos años, mostró que un incremento en la concentración de HbF, de al menos un 4% tenía un efecto beneficioso, al grado de que algunos de los pacientes se reincorporaban al trabajo y a la escuela, gracias a la mejoría que habían recibido (37). Luego un estudio multicentro, doble ciego, con dos grupos de pacientes, uno tratado con HU y otro con un placebo, mostró que en el primero había una reducción significativa de las crisis de dolor, manifiesta desde los primeros tres meses del estudio (38); nueve años más tarde, la mortalidad de esos pacientes tratados con HU se redujo en un 40% (39). Incluso el primer paciente tratado con HU continuaba tomando el tratamiento 25 años después sin mayores complicaciones. No obstante, se ha indicado que el uso de HU durante el embarazo aumenta el riesgo de malformaciones fetales, también se ha discutido una posible relación

con leucemia, pero se requiere más investigación prospectiva para aclarar este último efecto adverso (40).

2010: las pruebas de tamizaje nacionales

A pesar del avance en el conocimiento y manejo de la drepanocitosis, esta condición sigue siendo uno de los factores de más peso en la alta mortalidad infantil en países en desarrollo con pobre infraestructura en salud (41), y en el África subsahariana el panorama es muy grave, con niños enfermos que rara vez alcanzan los cinco años (42). Sin embargo, como se mencionó previamente, Jamaica representa un cuadro marcadamente contrastante, gracias a un modelo de atención basado en el diagnóstico temprano y la implementación de medidas preventivas o de tratamiento de bajo costo, como la educación a los padres, el consejo genético, antibioticoterapia preventiva y vacunación contra *Haemophylus influenzae*, entre otras acciones. El éxito de estas medidas se refleja en una mejora significativa en la calidad de vida y los casos homocigotos alcanzan la mayoría de edad con una expectativa de vida superior a los 50 años (43); tales datos justifican la inversión en los programas nacionales de tamizaje neonatal.

El tamizaje neonatal se inició en la década de 1960 con la fenilcetonuria y luego se fueron incorporando otros errores innatos del metabolismo e incluyeron la drepanocitosis en la década de 1970; en EEUU, gracias a una ley promulgada durante la administración del presidente Richard Nixon, que dotaba de fondos para la investigación en esta hemoglobinopatía.

Inicialmente la prueba diagnóstica para la drepanocitosis era la electroforesis en acetato de celulosa y los casos sospechosos se confirmaban con la electroforesis en gel de agarosa (44); posteriormente, se propuso la electroforesis de punto isoeléctrico, conocida como

IEF, por sus siglas del inglés (*isoelectric focusing*) y la cromatografía líquida de alta eficacia, que también es nombrada como HPLC, por las siglas de *high performance liquid chromatography*, que corresponden a los dos métodos diagnósticos sobre los que hoy se basan los programas masivos de tamizaje neonatal de hemoglobinopatías (45).

El diagnóstico masivo se fue implementando en diversos países, inicialmente con programas dirigidos a población a riesgo, la cual incluía personas de origen africano o mediterráneo; sin embargo, el término “población a riesgo”, haciendo alusión a raíces étnicas, tiene un tinte discriminatorio; por otra parte, las poblaciones se mezclan cada vez más y las tonalidades de piel se homogeneizan y pierden importancia, por lo cual los programas de tamizaje deben ser universales, como se propuso en Francia, incluyendo territorios en el caribe como Guadalupe (46), a lo que se han ido incorporando otros países entre ellos Canadá (47) e Inglaterra (48), entre otras naciones europeas cuya afluencia de emigrantes ha ido en aumento en las últimas décadas y por lo tanto, la frecuencia de portadores de HbS cada día es más común. En América Latina solo Costa Rica y Brasil tienen programas globales de tamizaje neonatal, que incluyen las hemoglobinopatías, aunque se tienen datos parciales de Venezuela, México y Colombia (49). Con respecto a Cuba, Granda y colaboradores (50) indican que desde 1988 su programa de tamizaje cubre todo el país, e incluyen datos de la detección intrauterina antes de las 24 semanas del embarazo, para el periodo de 1987 a 1989, en el cual se diagnosticaron 98 casos intrauterinamente (73 HbSS y 25 HbSC) y en el 73% de ellos se interrumpió el embarazo; una alternativa rechazada en otros países dada la supervivencia de los casos homocigotas; aunque la prevalencia de aborto espontáneo o mortinato asociado a drepanocitosis es cercana al 33% (51). Con respecto a las islas del Caribe, su importante herencia africana justifica los esfuerzos para establecer programas de detección temprana de la

drepanocitosis, como ha ocurrido en Aruba y San Martín (52) y resaltando sobre todo el ejemplo de Jamaica, que fue pionera y que como se mencionó previamente ha logrado beneficios importantes mediante un programa de tamizaje neonatal, acompañado de medidas preventivas de bajo costo, que motivó la creación de una red de investigación denominada CAREST, por sus siglas del inglés “*Caribbean Network of Researchers on Sickle Cell Disease and Thalassemia*” (53). En el contexto latinoamericano, el caso de Argentina es contrastante, al menos en el informe de Noguera y colaboradores (54), quienes no justifican un programa nacional de tamizaje, argumentando su baja prevalencia de portadores de HbS, explicado por el peso de su herencia genética europea. Sin embargo, tal afirmación solo confirma la negación e invisibilización de la población afroargentina, que oscila entre el 4 y 6% de la población, lo que representa unos dos millones de personas (55).

Más allá de los primeros cien años

El futuro inmediato muestra dos vertientes opuestas en el horizonte de la drepanocitosis; el calificativo de opuestas radica en que mientras en países desarrollados, donde los pacientes con HbSS logran una expectativa de vida que supera los 50 años, la investigación se centra en la búsqueda de una cura. En tanto, la vertiente opuesta muestra un panorama sombrío en algunos países del África subsahariana, donde más del 50% de los niños que nacen con la condición de HbSS, no alcanza los cinco años (42).

El futuro de la drepanocitosis en países ricos

La primera vertiente tiene sus raíces en la década de 1980, cuando se inició la verdadera cura de la drepanocitosis mediante el trasplante de médula ósea (56-57); se trató de una

niña de ocho años, HbSS, que contaba con un hermano HbSA compatible y aquí se presenta una pincelada de serendipia, ya que la razón que motivó el trasplante, fue que la niña padecía una leucemia aguda y el beneficio no esperado de tal intervención fue la mejoría del problema de drepanocitosis, pues seis meses luego del trasplante fue considerada como HbSA, o sea de enferma pasó a portadora y por lo tanto, carente de síntomas (58).

La cura de la drepanocitosis, tal como ocurrió en el caso reseñado anteriormente, consiste en el trasplante allogenico de células madre hematopoyéticas de un donador compatible, que se implantarían en la médula e inducirían la formación de eritrocitos sin la mutación y por lo tanto, productores de Hb normal; el problema fundamental es contar con ese donador compatible y la opción alterna de recurrir a otros donadores, expone al paciente a los problemas inmunológicos propios del rechazo de órganos y el tratamiento en tales casos con busulfán y ciclofosfamida conlleva riesgos secundarios, entre ellos la disfunción gonadal (59). A pesar de que el trasplante de médula ósea en pacientes con drepanocitosis severa tiene una tasa de curación superior al 80%, esta opción continúa siendo muy limitada debido a la necesidad de encontrar un donador compatible y al costo. Por ejemplo, para 2013 se habían realizado unos 1 200 trasplantes en EEUU y Europa (60); mil de esos pacientes mostraron una supervivencia libre de signos superior al 91% a los cinco años post intervención, lo que confirma esta opción como la única cura previsible hasta el momento (61-62).

En el 2006, surgió una opción curativa que rozaba la ciencia ficción y fue la inducción de células madres pluripotenciales a partir de células adultas, cuya pesquisa bibliográfica puede seguirse bajo el acrónimo de iPS (*induction of pluripotent stem*), con sus seguidores y detractores. Esta opción implicaría tomar células de un paciente con un problema

genético, transformarlas en células madre, corregir el defecto e implantarlas nuevamente en el hospedero y, por lo tanto, se obvian los problemas de histocompatibilidad. Se trata de un procedimiento aparentemente tan simple que en un inicio los autores guardaron hermetismo sobre el procedimiento, ya que el secreto residía en una herramienta básica consistente de cuatro genes, desafortunadamente con potencial oncogénico (*Oct3/4*, *Sox2*, *c-Myc* y *Klf4*), que son introducidos en fibroblastos murinos mediante un vector viral; obviamente la aplicación terapéutica en humanos arrastra los problemas éticos de manipulación genética e introducción de genes con un potencial oncogénico importante (63-64), pero que se vislumbra como la corrección genética autóloga de la mutación; otro factor negativo, es el vector que se ha utilizado para llevar a cabo la corrección, pues se trata de un lentivirus de origen murino (65), por lo que permanece latente el riesgo de que la integración de ese vector arrastre algún oncovirus, ya sea en las propias células madre del paciente o bien de un donador. Por otra parte, parece posible hacer una corrección genética de la mutación empleando endonucleasas, lo que representaría una de las opciones más prometedoras para la cura, mediante el tratamiento de las células madre hematopoyéticas del paciente, que luego le serían implantadas, con lo cual después de una sola intervención el paciente tornaría a una vida normal (66-67). La información anterior augura que en el futuro se podría contar con una cura definitiva para la drepanocitosis.

El futuro de la drepanocitosis en las regiones más pobres del planeta

Dejando de lado los costos económicos, los métodos diagnósticos automatizados para la drepanocitosis en el contexto del tamizaje neonatal, requieren equipo y personal entrenado, además de un suministro regular de corriente eléctrica; condiciones que nos parecen normales en la mayoría de los países en desarrollo, sin embargo, en regiones muy

pobres del África subsahariana, aún contar con un suministro regular de electricidad es uno de los obstáculos enfrentados e irónicamente, ese territorio alberga algunas de las regiones con la prevalencia más alta de HbS, lo cual aunado a factores socioculturales, hacen que los retos para el futuro se concentren en la investigación en técnicas baratas y simples, que requieran el mínimo equipo de laboratorio. Alapan *et al.* (68) clasificaron esos métodos en cuatro categorías: a) Pruebas en papel de solubilidad de hemoglobina; b) Inmunoensayos de flujo lateral; c) Separación de hemoglobina basada en densidad y d) Micro-electroforesis.

a) Métodos en papel: Constituyen la modalidad más simple que en última instancia se basan en desoxigenar y hemolizar una muestra de sangre y colocar una alícuota en un trozo de papel de electroforesis, en el que se demarcó un círculo de un centímetro de diámetro para limitar el área de prueba; y luego de unos minutos, leer el tipo de mancha generado, en el cual se puede identificar la presencia de HbS debido a su poca solubilidad con respecto a la HbA. El antecedente práctico de este método fue una opción para evaluar la concentración de hemoglobina (69), que fue perfeccionada para evaluar la presencia de HbS, para lo cual se adicionó hidrosulfito de sodio como agente reductor a la mezcla hemolítica (70-71). Una de las limitaciones del método, era la baja sensibilidad para detectar concentraciones de HbS menores del 15%, lo que le invalidaba para evaluar muestras de neonatos; lo cual fue superado incluyendo en el sistema una filtración; para ello diseñaron un dispositivo que consiste en un tubo para la hemólisis de la muestra y luego se introduce una especie de tapón largo, provisto de una membrana filtrante, que retiene los estromas celulares, de manera que no intervengan en la mancha de hemoglobina generada por la alícuota de la muestra cuando se deposita en el papel. Esta

modificación elevó el costo de la prueba; la original era de solo \$0.07 y con la modificación subió a \$2,12; aún así, sigue siendo una opción importante, pues en Angola, donde fue evaluada la prueba, el costo de un análisis estándar de IEF es de \$4,94 y está limitado solo a algunos centros de salud, por lo cual no puede emplearse como método universal en ese país; no obstante, el método sigue teniendo limitaciones en neonatos, en quienes no se puede diferenciar entre heterocigotos y homocigotos y presenta algunos resultados falsos positivos y negativos, por lo cual debe utilizarse solo como un método de tamizaje y no diagnóstico (72).

b) Inmunoensayos de flujo lateral: Este tipo de dispositivos de diagnóstico rápido se inició en la década de 1980, con una de las pruebas pioneras de embarazo, donde la aparición de una banda visible al ojo desnudo indica que la prueba es positiva: actualmente con la pandemia de la COVID-19, este tipo de pruebas se ha hecho más popular en todo el mundo. La prueba consiste en un inmunoensayo en el cual el antígeno a detectar se desplaza lateralmente desde el sitio de inoculación, hasta el punto de reacción, que consiste en una banda inmovilizada de un conjugado de un anticuerpo monoclonal con una partícula inerte, como es el oro coloidal y la reacción antígeno anticuerpo, se manifiesta por una reacción de color que hace visible la banda (73).

El principio descrito en el párrafo anterior es la base de las pruebas *Sickle Scan*TM (74) y *Hemo TypeSC*TM (75), ambas consisten en una lámina de prueba, con una almohadilla en un extremo, en la cual se deposita una alícuota de unos 5 µl de sangre hemolizada en un amortiguador; la hemoglobina liberada se desplaza lateralmente a través de un sustrato poroso de nitrocelulosa, hasta reaccionar con una de las bandas inmovilizadas de partículas de oro coloidal conjugadas con anticuerpos monoclonales contra HbA, HbS y HbC; el costo por prueba es de alrededor de \$0,25 (68).

c) Separación de hemoglobina basada en densidad: El método es relativamente simple, se basa en que al polimerizar la HbS y formar los drepanocitos, se aumenta su densidad; lo que permite diferenciarlos de los eritrocitos con hemoglobina HbAA. La técnica consiste en mezclar una alícuota de sangre (5µl), con un agente polimerizante y centrifugar por 10 minutos en un tubo de microhematocrito. La prueba tiene un costo promedio de \$0,5 y como inconvenientes se señala la incapacidad de diferenciar los casos heterocigotos (HbAS) y no es aplicable a recién nacidos por su concentración de HbF; pero el obstáculo mayor es la necesidad de una centrífuga, en territorios donde ni siquiera se puede garantizar el suministro continuo de electricidad (76). En una investigación de campo en Zambia, los autores prueban la factibilidad del método, ya que los equipos de salud están familiarizados con métodos rápidos para detectar malaria y VIH; además, proponen utilizar una batería de auto como fuente de electricidad para operar la centrífuga; no obstante, la efectividad del método permite utilizarlo como prueba presuntiva, requiriendo un método de confirmación para los casos positivos (77).

d) Micro-electroforesis: Siguiendo la tendencia de un “Laboratorio en un chip” se ha diseñado un dispositivo de un tamaño similar al de una lámina portaobjetos, provista de una banda de acetato de microcelulosa y los electrodos para realizar una electroforesis de Hb, cuyo resultado aparece como una banda coloreada, permitiendo diferenciar entre otras la HbA, HbS, HbC; esta prueba se ha denominado *HemeChip*, y tiene un costo de \$0.9, con la ventaja sobre los otros métodos sencillos, de mostrar resultados equivalentes al de las pruebas estándar de electroforesis. En una prueba de campo en Nigeria, realizada a 226 niños, con edades entre las seis semanas y los cinco años, permitió identificar los pacientes HbSS, HbSC con un 100% de precisión, y de 96 a 98% para los pacientes HbAA y HbAS,

respectivamente; lo cual le ubica con una sensibilidad mayor al 97% con respecto a las pruebas estándar de HPLC, lo que augura una buena esperanza para el empleo de este dispositivo como diagnóstico (78).

La tecnología de un “Laboratorio en un chip”, parece unir las dos vertientes del futuro de la investigación en drepanocitosis, pues las tecnologías de punta coinciden como solución para las regiones más pobres del planeta. La polarización de la riqueza radica en que mientras en los países ricos la meta es la cura de la enfermedad, en los otros, es el diagnóstico temprano, lo cual augura la sobrevivencia de los niños homocigotas y una mejor calidad de vida.

Conclusión

En los primeros cien años de investigación en drepanocitosis, se identificó su etiología, se le definió como la primera enfermedad molecular descrita, se rastreó su origen hasta el África meridional y desde los primeros lineamientos epidemiológicos se asoció su dispersión con la trata de esclavos, lo que la trajo a América en los albores de la conquista europea; pero aquí, luego de unos 500 años de convivencia entre europeos, nativos y negros, los tintes de piel se han difuminado al grado de que el calificativo de “latino”, conjuga entre otras cosas una lengua y una cierta tonalidad de piel, como es el caso de Costa Rica (79), no obstante su discurso del siglo XIX proclamando la blancura de su población (80). Pero al igual que ocurre en muchos países latinoamericanos, las raíces negras se manifiestan en la homogeneidad territorial con respecto a la prevalencia de HbS y Costa Rica constata ese panorama epidemiológico con el primer informe del programa de tamizaje neonatal en Costa Rica, que incluyó a 70 943 neonatos, que correspondieron al 99% de los nacidos entre 2005 y 2006; en tal estudio se detectaron 565 casos de HbS,

si bien la prevalencia es baja, la mayor concentración de esos casos correspondió al Valle Central, la región que concentra la mayor población “blanca” del país (81). La razón es simple, el genoma del costarricense constituye una amalgama de aproximadamente un 45 a 61% de genes europeos, un 30 a 33,5% de genes amerindios y un 9 a 12,9% de genes negros (82-83). Por lo cual, en Costa Rica, como en el resto de Latinoamérica, podríamos parafrasear un viejo refrán, diciendo que “*de europeo, indio y negro, todos tenemos un poco*”.

En el caso de Europa, el flujo creciente de africanos que presionados por condiciones sociopolíticas buscan refugio, conduce a la dispersión de la drepanocitosis hacia nuevos territorios (84), lo que debe justificar la investigación en HbS, cuyo tamizaje debe incorporarse a los programas de salud. Por lo tanto, es importante que cada vez más países desarrollen los programas de tamizaje neonatal dirigidos a toda su población, haciendo eco del éxito logrado en Jamaica, con esperanzas de vida para los individuos HbSS, superiores a los 50 años.

Conflictos de interés

El autor declara que no tiene conflictos de interés.

Referencias

1. Shriner D, Rotimi CN. Whole-genome-sequence-based haplotypes reveals single origin of the sickle allele during Holocene wet phase. *Amer J Human Gen.* 2018; 102(4): 547–556.
2. Siddiqi AEA, Jordan LB, Parker CS. Sickle cell disease – the american saga. *Ethn Dis.* 2013; 23(2): 245-248.
3. Piel FB, Hay SI, Gupta S, Weatherall DJ, Williams TN. Global burden of sickle cell anaemia in children under five, 2010–2050: Modelling based on demographics, excess mortality, and interventions. *PLoS Med.* 2013;10(7). Recuperado de: doi:10.1371/journal.pmed.1001484 [Consultado 1 de diciembre 2019].
4. Asakitikpi AE. Born to Die: The *Ogbanje* Phenomenon and its Implication on Childhood Mortality in Southern Nigeria. *Anthropologist.* 2008; 10(1): 59-63.

5. Makani J, Cox SE, Soka D, Komba AN, Oruo J, Mwarmtemi H, et al. Mortality in sickle cell anemia in Africa: A prospective cohort study in Tanzania. *PLoS ONE*. 2011; 6(2). Recuperado de: doi:10.1371/journal.pone.0014699 [Consultado: 1 de diciembre 2019].
6. Wierenga K JJ, Hambleton IR, Lewis NA. Survival estimates for patients with homozygous sickle-cell disease in Jamaica: a clinic-based population study. *Lancet*. 2001; 357(9257):680-683.
7. World Health Organization. Sickle-cell anaemia. Fifty-ninth World Health Assembly, provisional agenda Item 11.4. 2006; A59:1. Recuperado de: http://www.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA59/A59_9-en.Pdf [Consultado: Julio 06 2018].
8. Weatherall DJ, Clegg JB. Inherited haemoglobin disorders: an increasing global health problem. *Bull WHO*. 2001; 79(8): 704–712.
9. Weatherall DJ. Towards molecular medicine; reminiscences of the haemoglobin field, 1960–2000. *Brit J Haematol*. 200; 115(4): 721-738.
10. Weatherall DJ. The inherited diseases of hemoglobin are an emerging global health burden. *Blood*. 2010; 115(22): 4331–4336.
11. Knight-Madden J, Lee K, Elana G, Elenga N, Marcheco-Teruel B, Keshi N, et al. Newborn screening for sickle cell disease in the Caribbean: An update of the present situation and of the disease prevalence. *Int J Neonatal Screen*. 2019; 5(1): 5-14. Recuperado de: doi:10.3390/ijns5010005 [Consultado: 3 febrero 2020].
12. Serjeant GR. The emerging understanding of sickle cell disease. *Brit J Haematol*. 2001; 112(1): 3-18.
13. Feldman SD, Tauber AI. Sickle cell anemia: reexamining the first ‘molecular disease’. *Bull Hist Med*. 1997; 71(4): 623-650.
14. Dresbach M. Elliptical human red corpuscles. *Science*. 1904 ; 19(481): 469-470.
15. Dresbach M. Elliptical human red erythrocytes (A supplementary statements). *Science*. 1905; 21(534): 473-475.
16. Mason VR. Sickle cell anemia. *JAMA*. 1922; 79(16):1318-1320.
17. Huck JG. Sickle Cell Anaemia. *Bull Johns Hopkins Hosp*. 1923; 34(392): 335-344.
18. Scriver JB, Waugh TR. Studies on a case of sickle cell anemia. *Can Med Assoc J*. 1930; 23(3): 375-380.
19. Diggs KW, Ahmann CF, Bibb J. The incidence and significance of the sickle cell trait. *Ann Int Med*. 1933; 7(6): 769-778.
20. Neel JV. The clinical detection of the genetic carriers of inherited disease. *Medicine*. 1947; 26(2): 115-153.
21. Neel JV. The Inheritance of Sickle Cell Anemia. *Science*. 1949; 110(2846): 64-66.
22. Foy H, Kondi A, Brass W. Sickle-cell disease of Africans in Kenya. *East Afr Med J*. 1951; 28(1): 1-5.
23. Elrod JM, Karnad EA. Historical Review. William Bosworth Castle: Pioneer of haematological clinical investigation. *Brit J Haematol*. 2003; 121: 390-395.
24. Eaton WA. Linus Pauling and sickle cell disease. *Bioph Chem*. 2003 D; 100(1-3): 109-116.
25. Strasser BJ. Linus Paulin’s “Molecular disease”: Between history and memory. *Amer J Med Gen (Semin Med Genet)*. 2002; 115(2): 83-93.
26. Pauling L, Itano HA, Singer SJ, Wells IC. Sickle cell anemia, a molecular disease. *Science, New Series*. 1949; 110(2865): 543-548.

27. 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): 1082-1088.
28. Ingram VM. A specific chemical difference between the globins of normal human and sickle-cell anaemia haemoglobin. *Nature.* 1956; 178 (4537): 792-794.
29. Marenco-Rowe AJ. Structure-function relations of human hemoglobins. *Baylor Univ Med Center Proc.* 2006; 19(3): 239-245.
30. Dacie J. Hermann Lehmann 8 July 1910-13 July 1985. *Biograph Mem Fellows R Soc.* 1988; 34: 406-449.
31. Beadle D, Lehmann H. Abnormal haemoglobins and the genetic code. *Nature.* 1965; 207(4994): 259-261.
32. Watson J, Stahman AW, Bilello FP. The significance of the paucity of sickle cells in newborn negro infants. *Amer J Med Sci.* 1948; 215(4): 419-423.
33. Akinsheye I, Alsultan A, Solovieff N, Ngo D, Baldwin CT, Sebastiani P, et al. Fetal hemoglobin in sickle cell anemia. *Blood.* 2011; 118 (1):19-27.
34. Desimone J, Heller P, Hall L, Zwiers D. Azacytidine stimulates fetal hemoglobin synthesis in anemic baboons (globin genes/hypomethylation/cytidine analogue/gene expression). *Proc Natl Acad Scs USA.* 1982; 79(14): 4428-4431.
35. Humphnes RK, Dover G, Young NS, Moore JG, Charache S, Ley T, et al. 5-Azacytidine acts directly on both erythroid precursors and progenitors to increase production of fetal hemoglobin. *J Clin Invest.* 1985; 75(2): 547-557.
36. Platt OS, Orkin SH, Dover G, Beardsley GP, Miller B, Nathan DG. Hydroxyurea enhances fetal hemoglobin production in sickle cell anemia. *J Clin Invest.* 1984 Aug 1; 74(2): 652-656.
37. Charache S, Dover GJ, Moore RD, Eckert S, Ballas SK, Kshy M, et al. Hydroxyurea: effects on hemoglobin F production in patients with sickle cell anemia. *Blood.* 1992; 79(10): 2555-2565.
38. Charache S, Terrin ML, Moore RD, Dover GJ, Barton FB, Eckert SV, et al. Effect of hydroxyurea on the frequency of painful crises in sickle cell anemia. Investigators of the Multicenter Study of Hydroxyurea in Sickle Cell Anemia. *N Engl J Med.* 1995; 332(20): 1317-1322.
39. Steinberg MH, Barton F, Castro O, Pegelow CH, Ballas SK, Kutlar A, et al. Effect of hydroxyurea on mortality and morbidity in adult sickle cell anemia: risks and benefits up to 9 years of treatment. *JAMA.* 2003; 289(13): 1645-1651.
40. Platt OS. Hydroxyurea for the treatment of sickle cell anemia. *N Engl J Med.* 2008; 358(13): 1362-1369.
41. Modell B, Darlison M. Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators. *Bull WHO.* 2008; 86(6): 480-487.
42. Grosse SD, Odame I, Atrash HK, Amendah DD, Piel FB, Williams TN. Sickle cell disease in Africa. A neglected cause of early childhood mortality. *Am J Prev Med.* 2011; 41(6): S398-S405.
43. 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(3): 117-122.
44. Grover R, Shahidi S, Fisher B, Goldberg D, Wethers D. Current sickle cell screening program for newborns in New York City, 1979-1980. *Amer J Public Healt.* 1983; 73(3): 249-252.
45. Campbell M, Henthorn JS, C. Davies SC. Evaluation of cation-exchange HPLC

compared with isoelectric focusing for neonatal hemoglobinopathy screening. *Clin Chem.* 1999; 45(7): 969-975.

46. Bardakdjian-Michau J, Bahuau M, Hurtrel D, Godart C, Riou J, Mathis M, et al. Neonatal screening for sickle cell disease in France. *J Clin Pathol.* 2009; 62(1): 31-33.

47. Ducrocq R, Pascaud O, Bévier A, Finet C, Benkerrou M, Elion J. Strategy linking several analytical methods of neonatal screening for sickle cell disease. *J Med Screen.* 2001; 8(1): 8-14.

48. Streetly A, Latinovic R, Hall K, Henthorn J. Implementation of universal newborn bloodspot screening for sickle cell disease and other clinically significant haemoglobinopathies in England: screening results for 2005–7. *J Clin Pathol.* 2009; 62(1): 26-30.

49. Huttle A, Maestre GE, Lantigua R, Green NS. Sickle cell in Latin America and the United States [corrected]. *Pediatr Blood Cancer.* 2015; 62(7):1131-1136.

50. Granda H, Gispert S, Dorticos A, Martin, Cuadras Y, Calvo M, et al. Cuban program for prevention of sickle cell disease. *Lancet.* 1991; 337(8734): 152-315.

51. Dauphin-McKenzie N, Gilles JM, Jacques E, Harrington T. Sickle cell anemia in the female patient. *Obstet Gynecol Survey.* 2006; 61(5): 343-352.

52. Heyningen AM, Levenston MJ, Tamminga N, Scoop-Martijn EG, Wever RMF, Verhagen AAE, et al. Estimated incidence of sickle-cell disease in Aruba and St Maarten suggests cost-effectiveness of a Universal Screening Programme for St Marteen. *West Indian Med J.* 2009; 58(4): 301-304.

53. Knight-Madden J, Villaescusa R, Keclard-Christophe L, Elana G, Lee K, Elenga L, et al. "CAREST"- Caribbean network of researchers on sickle cell disease and thalassemia: a regional organisation for health promotion and research. *Caribbean Science and Innovation Meeting 2019.* 2019, Pointe-à-Pitre (Guadeloupe), France.

54. Noguera N, Bragós I, Morisoli L, Milani A. Screening for hemoglobinopathies in neonates in Argentina. *Haematologica.* 1999; 84(5): 387-389.

55. Kleidermacher G, «Africanos y afrodescendientes en la Argentina: invisibilización, discriminación y racismo », *RITA.* 2011; 5. Recuperado de: <http://www.revista-rita.com/traits-dunion-thema-59/africanos-y-afrodescendientes-en-la-argentina-invisibilizacion-discriminacion-y-racismo.html> [Consultado: 15 Enero 2020].

56. Vermylen C, Fernandez-Robles E, Ninane J, Cornu G. Bone marrow transplantation in five children with sickle cell anaemia. *Lancet.* 1988; 1(8600): 1427-1428.

57. Walters MC. Bone marrow transplantation for sickle cell disease: Where do we go from here. *J Pediatr Hematol Oncol.* 1999; 21(6): 467-474.

58. Johnson FL, Look AT, Gookerman J, Ruggiero MR, Dalla-Pozza L, Billings FT. Bone marrow transplantation in a patient with sickle-cell anemia. *N Engl J Med.* 1984; 311(12): 380-383.

59. Brachet C, Heinrichs C, Tenoutasse S, Devalck C, MD, Azzi N, Ferster A. Children with sickle cell disease: Growth and gonadal function after hematopoietic stem cell transplantation. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2007; 29(7): 445–450.

60. Gluckman E. Allogeneic transplantation strategies including haploidentical transplantation in sickle cell disease. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2013; 2013(1): 370-376.

61. Gluckman E, Cappelli B, Bernaudin F, Labopin M, Volt F, Carreras J, et al. Sickle

cell disease: an international survey of results of HLA-identical sibling hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*. 2017; 129 (11): 1548-1556.

62. Bernaudin F, Dalle JH, Bories D, de Latour R, Robin M, Bertrand Y, et al. Long-term event-free survival, chimerism and fertility outcomes in 234 patients with sickle-cell anemia younger than 30 years after myeloablative conditioning and matched-sibling transplantation in France. *Haematologica*. 2020;105(1): 91-101.

63. Cyranoski D. Stem cells: 5 things to know before jumping on the iPS bandwagon. *Nature*. 2008; 452(7186): 406-408.

64. Liu SV. iPS: A more critical review. *Stem Cell Develop*. 2008 Jun; 17(3): 391-397.

65. Pawliuk R, Westerman KA, Fabry ME, Payen E, Tighe R, Bouhassira EE, et al. Correction of sickle cell disease in transgenic mouse models by gene therapy. *Science*. 2001; 294(5550): 2368-2371.

66. Hoban MD, Cost G J, Mendel M C, Romero Z, Kaufman M L, Joglekar AV, et al. Correction of the sickle cell disease mutation in human hematopoietic stem/progenitor cells. *Blood*. 2015; 125(17): 2597-2604.

67. Bourzac, K. Gene therapy: Erasing sickle-cell disease. *Nature*. 2017; 549 (7673): S28–S30.

68. Alapan Y, Fraiwan A, Kucukal E, Hasan MN, Ung R, Kim M, et al. Emerging point-of-care technologies for sickle cell disease screening and monitoring. *Experts Review of Medical Devices*. 2016; 13(12): 1073-1093.

69. Yang X, Piety NZ, Vignes SM, Benton MS, Kanter J, Shevkoplyas SS. Simple paper-based test for measuring blood hemoglobin concentration in resource-limited settings. *Clin Chem*. 2013; 59(10): 1506-1513.

70. Yang X, Kanter J, Piety NZ, Benton MS, Vignes SM, Shevkoplyas SS. A simple, rapid, low-cost diagnostic test for sickle cell disease. *Lab Chip*. 2013; 13(8): 1464-1467.

71. Piety NZ, Yang X, Lezzar D, George A, Shevkoplyas SS. A rapid paper-based test for quantifying sickle hemoglobin in blood samples from patients with sickle cell disease. *Am J Hematol*. 2015; 90(6): 478-482.

72. Piety NZ, George A, Serrano S, Lanzi MR, Patel PR, Noli MP, et al. A paper-based test for screening newborns for sickle cell disease. *Sci Rep*. 2017; 7: 45488. Recuperado de: <https://doi.org/10.1038/srep45488>. [Consultado: 17 diciembre de 2019].

73. O'Farrell B. Evolution in lateral flow-based immunoassay system. En: Wong RC, Tse HY (Eds.). *Lateral flow immunoassay*. Springer, New York; 2009, p. 1-33.

74. Kanter J, Telen MJ, Hoppe C, Christopher L, Roberts L, Jason S, et al. Validation of a novel point of care testing device for sickle cell disease. *BMC Med*. 2015; 13 (1): 225 Recuperado de: doi: 10.1186/s12916-015-0473-6 [Consultado: 1 diciembre de 2019].

75. Quinn CT, Paniagua MC, DiNello RK, Panchal A, Geisberg M. A rapid, inexpensive and disposable point-of-care blood test for sickle cell disease using novel, highly specific monoclonal antibodies. *Br J Haematol*. 2016; 175(4): 724-732.

76. Kumar AA, Patton MR, Hennek JW, Lee SYR, D'Alesio-Spina G, Yang X, et al. Density-based separation in multiphase systems provides a simple method to identify sickle cell disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2014; 111(41): 14864-14869.

77. Kumar AA, Chunda-Liyoka C, Hennek JW, Mantina H, Lee SYR, et al. Evaluation of a Density-Based Rapid Diagnostic Test for Sickle Cell Disease in a Clinical Setting in Zambia. *PLoS ONE*. 2014; 9(12): e114540. Recuperado de: doi: 10.1371/journal.pone.0114540. PMID: 25490722; PMCID: PMC4260838.

14540 [Consultado: 15 de enero de 2020].

78. Fraiwan A, Hasan MN, An R, Xu JZ, Rezac AJ, Kocmich NJ, et al. International Multi-Site Clinical Validation of Point-of-Care Microchip Electrophoresis Test for Hemoglobin Variant Identification. *Blood*. 2019; 134 (Supplement_1): 3373. Recuperado de : <https://doi.org/10.1182/blood-2019-129336> [Consultado: 15 diciembre de 2019].
79. Thiel y Hoffmann, Bernardo Augusto, Monografía de la población de la República de Costa Rica en el siglo XIX. Población y Salud en Mesoamérica [Internet]. 2011;9(1):1-54. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=44618728002> [Consultado 1 de junio de 2020].
80. Molina-Jiménez I. *Costarricense por dicha. Identidad nacional y cambio cultural en la Costa Rica durante los siglos XIX y XX*. San José: Editorial UCR; 2022. p 170
81. Abarca G, Navarrete M, Trejos R, de Céspedes C, Saborío M. Hemoglobinas anormales en población de Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*. 2008; 56(3): 995-1001.
82. Morera B, Barrantes R, Marin-Rojas R. Gene Admixture in the Costa Rican Population. *Ann Hum Genet*. 2004; 67(1): 71–80.
83. Campos-Sánchez R, Raventós H, Barrantes R. Ancestry informative markers clarify the regional admixture variation in the Costa Rican Population. *Human Biology Open Access Pre-Prints*. 2013 Paper 34. Recuperado de: http://digitalcommons.wayne.edu/humbiol_preprints/34 [Consultado: 15 enero 2020].
84. Frédéric B Piel, Andrew J Tatem, Zhuojie Huang, Sunetra Gupta, Thomas N Williams, David J Weatherall Global migration and the changing distribution of sickle haemoglobin: a quantitative study of temporal trends between 1960 and 2000. *Lancet Glob Health*. 2014, (2)2.