



ORIGINAL

Cribado neonatal de anemia falciforme en la Comunidad Autónoma Balear. Estudio piloto anónimo no relacionado[☆]

H. López-Escribano, M. Vila Vidal*, A. Barceló Bennassar,
M. Riesco Prieto y O. Ayllón Gatnau

Servicio de Análisis Clínicos, Laboratorio Neonatal, Hospital Universitario Son Dureta, Palma de Mallorca, Baleares, España

Recibido el 29 de octubre de 2008; aceptado el 5 de enero de 2009

Disponibile en Internet el 18 de abril de 2009

PALABRAS CLAVE

Anemia falciforme;
Hemoglobinopatías;
Cribado neonatal

Resumen

Introducción: La anemia falciforme, fenotipo FS, es la más común de las hemoglobinopatías estructurales. Es un trastorno hereditario causado por la presencia de hemoglobina S (HbS), resultado de una mutación puntual que afecta al codón 6 de la cadena betaglobina. En condiciones de hipoxia, se produce la polimerización de la HbS y da lugar a crisis vasoclusivas y a anemia hemolítica.

Debido a que los fenómenos de inmigración han aumentado considerablemente en España y a que la mayoría de los inmigrantes pertenecen a poblaciones de riesgo para distintas hemoglobinopatías, nuestro objetivo es determinar la incidencia de la anemia falciforme y de otras hemoglobinopatías estructurales en los recién nacidos de esta Comunidad Autónoma (Islas Baleares), mediante un estudio piloto no relacionado y evaluar la necesidad de incluir esta enfermedad dentro del programa de cribado neonatal.

Material y métodos: Para esto, se ha utilizado el mismo espécimen de sangre capilar usado para la detección precoz de hipotiroidismo congénito, fenilcetonuria y fibrosis quística. La separación de variantes de hemoglobina (Hb) se llevó a cabo mediante cromatografía líquida de alta resolución y se utilizó el sistema automático Variant[®] (Bio-Rad).

Resultados: La incidencia global de variantes de Hb ha sido de 9,9 por cada 1.000 recién nacidos analizados, con una incidencia de anemia falciforme (fenotipo FS) de uno cada 6.756 casos analizados y de portadores (fenotipo FAS) de uno cada 199 casos.

Conclusiones: Tanto la tasa global de variantes observadas como la incidencia de rasgo falciforme justifican plantearse la inclusión del estudio de hemoglobinopatías en el programa de cribado neonatal de la Comunidad.

© 2008 Asociación Española de Pediatría. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

[☆]Financiación: el laboratorio Bio-Rad cedió el analizador de cromatografía líquida de alta resolución Variant[®] mientras duró el estudio y colaboró con varios lotes de reactivo. El Real Patronato sobre Discapacidad (Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales) abonó los restantes. La Asociación Española de Cribado Neonatal (AECNE) gestionó esta ayuda.

*Autor para correspondencia.

Correos electrónicos: mvila@hds.es, escribanox@yahoo.es (M. Vila Vidal).

KEYWORDS

Sickle cell anaemia;
Haemoglobinopathies,
Neonatal screening

Neonatal screening of sickle cell disease in the Balearic Islands Autonomous Community. Pilot study in anonymous unrelated population

Abstract

Introduction: Sickle cell disease (SCD) describes a group of inherited disorders caused by the presence of the sickle haemoglobin (HbS) which results from a point mutation affecting codon 6 of the β globin chain (β codon 6, Glu 6 Val).

The pathophysiology involves polymerisation of HbS under low oxygen conditions causing vaso-occlusion and chronic haemolysis and anaemia.

Due to increase in immigrants within our population and the majority of this group being a risk population for different haemoglobinopathies, the aim of our study is to determine the incidence of SCD and others structural haemoglobinopathies in the neonatal population of the Balearic Islands Autonomous Community, by means of an unrelated pilot study and determine the need to include this pathology in a newborn screening program.

Material and methods: The study was performed with the same blood spot specimen dried on filter paper used for congenital hypothyroidism, phenylketonuria and cystic fibrosis screening. High-performance liquid chromatography (HPLC), using the VARIANTS (Biorad) automated system, was used to detect variants haemoglobin variants.

Results: The overall incidence was 9.9 per 1000 specimens. The incidence of SCD was 1/6756 (FS) and the incidence of sickle cell traits was 1/199 (FAS).

Conclusion: These results confirm the need to include screening for SCD and other haemoglobinopathies in our neonatal screening program.

© 2008 Asociación Española de Pediatría. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

Las alteraciones de la hemoglobina (Hb), o hemoglobinopatías, son un grupo de trastornos genéticos, autosómicos recesivos, con alto grado de morbimortalidad, que se producen por alteraciones relacionadas con la síntesis y la estructura de la Hb. Son una de las enfermedades genéticas más frecuentes en todo el mundo. Pueden clasificarse en 2 grandes grupos: *talasemias* (alteraciones cuantitativas), en las que hay un defecto de síntesis de al menos una de las cadenas de globina, que son estructuralmente normales, y las *hemoglobinopatías estructurales* (alteraciones cualitativas), en las que se sintetiza una cadena de globina anormal^{1,2}. Suponen el error congénito más común en algunas poblaciones procedentes de África, el área mediterránea, el Caribe, América Central y América del Sur. No obstante, debido a los movimientos de población dados en los últimos años, su incidencia está aumentando mundialmente¹, sobre todo en el sur y noroeste de Europa³.

En las talasemias, al producirse la deficiencia de una o más cadenas polipeptídicas de la molécula de Hb, se producen diversos grados de anemia crónica. Tienen una frecuencia variable según las zonas geográficas: tiene una especial predilección por las poblaciones mediterráneas en el caso de la betatalasemia y por las zonas de Oriente Medio, Sudeste Asiático y China en el caso de la alfatalsemia.

Las hemoglobinopatías estructurales son fruto de mutaciones de los genes que codifican las cadenas de globina, por lo que según sea el tipo de aminoácido alterado y el lugar que ocupe en la cadena pueden variar las propiedades fisicoquímicas de ésta. Las hemoglobinopatías estructurales

más ampliamente extendidas por toda la geografía mundial son la Hb S (HbS) en África tropical y subtropical, la Hb C (HbC) en el Oeste de África, la Hb E (HbE) en el Suroeste de Asia y la Hb D (HbD) en Punjab, la India.

La anemia de células falciformes, o anemia drepanocítica, se caracteriza por la presencia de HbS y es consecuencia de una mutación puntual del sexto codón del exón 1 del gen de la betaglobina, localizado en el cromosoma 11. Esto se traduce en drásticas alteraciones en la estabilidad molecular y la solubilidad de la HbS que, en condiciones de hipoxia, tiende a formar polímeros insolubles que provocan la formación de hematíes falciformes, ocluyen los vasos y provocan crisis vasoclusivas, que pueden afectar a diferentes órganos⁴, a la vez que producir una anemia hemolítica por destrucción prematura de los hematíes^{5,6}. El genotipo condiciona la gravedad clínica de la enfermedad, y se manifiesta en los individuos homocigotos (Hb SS) o en dobles heterocigotos para HbS con otra Hb anormal que afecte a la cadena de la betaglobina (Hb SC, Hb SD, HbS y betatalasemia) con distinta expresividad clínica. Puede ser que los heterocigotos no presenten manifestaciones clínicas, salvo en situaciones críticas, por lo que no deben considerarse enfermos⁷.

La detección precoz de hemoglobinopatías se inició en la década de 1980 en algunos estados de los EE. UU. a raíz de la inmigración procedente del norte de África e iba dirigida a estos colectivos de riesgo, pero en 1987 el Instituto Americano de Salud (ANHI) ya recomendó el cribado universal de la anemia falciforme⁸.

En los últimos años, debido al aumento de los fenómenos migratorios, se ha ido incorporando como parte de los

programas de cribado neonatal en algunos países en los que la incidencia de estas enfermedades comienza a ser un problema de salud pública, como Reino Unido, Francia y Bélgica. El objetivo principal de estos programas es identificar aquellos recién nacidos afectados de una hemoglobinopatía clínicamente grave y evitar, en lo posible, la morbimortalidad que se produce en estos pacientes^{9,10}.

En España, donde todas las Comunidades Autónomas disponen de un programa de cribado neonatal, el cribado de anemia falciforme sólo está implantado en 2 de éstas. El grupo de Dulín et al¹¹ realizó en la Comunidad de Madrid el primer estudio preliminar sobre su incidencia. A éste lo siguió un estudio piloto, publicado en 2003¹² y a raíz del que decidieron ampliar el programa de cribado de su Comunidad para la detección de hemoglobinopatías. En el año 2006 se publicó otro estudio realizado en una cohorte del Hospital Clínico San Carlos de Madrid¹³ y otro realizado en Cataluña¹⁴, que distingue 2 grupos de poblaciones (una población autóctona y una población de inmigrantes) y que demuestra que el cambio poblacional al que se asiste deberá tenerse en cuenta en estos programas.

Está fuera de toda duda que la detección precoz de la anemia de células falciformes reduce la morbimortalidad de los neonatos a los que se les realiza el cribado¹⁵, pero uno de los dilemas que plantea es si este cribado ha de ser universal o selectivo^{7,16}, es decir si es dirigido únicamente a recién nacidos procedentes de áreas con elevada prevalencia de estas enfermedades.

El objetivo de este estudio es determinar la prevalencia de la anemia falciforme y de otras hemoglobinopatías estructurales mediante un estudio piloto anónimo y no relacionado en la población neonatal de la Comunidad Autónoma de las Islas Baleares, ya que en los últimos años los fenómenos de inmigración han aumentado considerablemente en esta región.

Material y métodos

Sujetos

Se han incluido en el estudio un total de 6.756 recién nacidos procedentes de todos los hospitales, tanto públicos como privados, del ámbito de la Comunidad. Este tamaño muestral corresponde al 57% de los cribados realizados durante el año 2007. Se ha utilizado el mismo espécimen de sangre capilar que se obtiene por punción del talón del recién nacido para la detección precoz de hipotiroidismo congénito, fenilcetonuria y fibrosis quística. Las muestras se seleccionaron de forma aleatorizada entre todas las que llegaron al Laboratorio de Neonatal del Hospital Universitario de Son Dureta durante 6 meses (2007) y de forma totalmente anónima, por lo que se desconocía el país de origen. El único criterio de inclusión en el estudio fue tener realizado, previamente, el análisis para el cribado de hipotiroidismo congénito, fenilcetonuria y fibrosis quística.

Procedimiento

Se taladra un disco de 3 mm de diámetro de la sangre sobrante de la tarjeta mediante un cortador automático y se lo deposita sobre una microplaca de 96 pocillos.

Se añaden 250 µl de agua desionizada y se agita durante 10 min en agitador horizontal a temperatura ambiente hasta que libera la Hb. La placa se introduce en el inyector automático y se inyectan 5 µl del eluato en la columna para realizar la cromatografía.

Análisis de variantes de la hemoglobina

La separación de variantes de la Hb se lleva a cabo mediante cromatografía líquida de alta resolución, con la utilización del sistema automático Variant[®] (Bio-Rad). La columna utilizada es de intercambio catiónico con un gradiente preprogramado que va incrementando la fuerza iónica de la fase móvil, que es capaz de separar las variantes de Hb existentes. El tiempo de retención, característico de cada variante, es el tiempo que transcurre desde que se inyecta la muestra hasta que se obtiene el punto máximo de cada pico. La detección se realiza espectrofotométricamente a una longitud de onda de 415/690 nm.

Este método es capaz de separar e identificar las siguientes variantes de Hb: Hb fetal (HbF), Hb glucosilada, Hb en adultos (HbA), Hb A₂ (HbA₂), HbE, Hb falciforme (S), HbC y HbD.

En todas las microplacas se procesan 2 controles de calidad interno. El control 1 contiene las HbF, las HbA, las HbA₂, las HbE y las HbS, y el control 2 contiene las HbF, las HbA, las HbD y las HbC.

Resultados

Se han analizado un total de 6.756 recién nacidos de las distintas islas del Archipiélago Balear. El total de casos detectados con alguna variante hemoglobínica ha sido 67 (9,9 de cada 1.000 casos), de los cuales uno (0,15 de cada 1.000 casos) se clasificó como homocigoto para la HbS (anemia falciforme) con fenotipo neonatal FS, y 34 casos (5 de cada 1.000) fueron portadores de HbS (rasgo falciforme) con fenotipo neonatal FAS. De los 32 casos restantes, 13 casos fueron portadores de HbC (FAC), 4 casos fueron portadores de HbD (FAD) y 5 casos fueron posibles portadores de HbE (FAE y HbA₂) (tabla 1).

También se detectó en 10 casos un pico que no se correspondía con ninguna de las variantes anteriores

Tabla 1 Incidencia de variantes de hemoglobina en recién nacidos de la Comunidad Autónoma de las Islas Baleares

Variantes de Hemoglobina (n: 67)	Número de recién nacidos (n: 6.756)	Incidencia
FS	1	1/6.756
FAS	34	1/199
FAC	13	1/520
FAD	4	1/1.689
FAE/A ₂	5	1/1.351
FA más otras*	10	1/676

*Otras se refiere a variantes de la hemoglobina distintas a S, C, D o E.

(3 fenotipos FAXE y HbA₂ y 7 fenotipos FAX). La figura 1 representa la distribución de las distintas variantes estructurales de Hb encontradas en recién nacidos de las Islas Baleares.

Por tanto, la incidencia global de anemia falciforme (fenotipo FS) en la Comunidad es de uno cada 6.756 recién nacidos analizados y la incidencia global de rasgo falciforme (fenotipo FAS) es de uno cada 199 recién nacidos analizados.

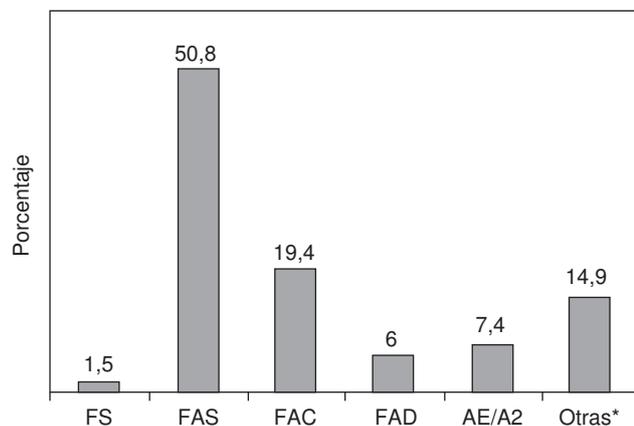


Figura 1 Distribución de las variantes de hemoglobina en recién nacidos de las Islas Baleares.

Discusión

A pesar de las múltiples variantes en la estructura de la Hb, sólo 3 grupos (la alfafalasia, la beta talasemia y la anemia de células falciformes) son un problema de salud pública. El diagnóstico precoz de estas enfermedades y el tratamiento profiláctico reduce de forma significativa las muertes asociadas y las complicaciones, lo que supone un reto para los hematólogos⁹.

En España es poca la información contrastada sobre la verdadera incidencia de las diferentes formas de hemoglobinopatías (tabla 2)^{10-12,14,17}.

Ya en 1997, Dulín et al presentaron en la XXXIX Reunión Nacional de la AEHH y en el XIII Congreso de la SETH un estudio preliminar sobre el cribado neonatal de hemoglobinopatías en la Comunidad de Madrid, en el que encontraron una incidencia de rasgo falciforme de uno cada 710 recién nacidos analizados, sin ningún homocigoto y sugirieron realizar un estudio piloto que ampliara el número de muestras. En este estudio publicado en 2003¹² encontraron una incidencia de anemia falciforme de uno cada 5.851 casos y una incidencia de rasgo falciforme de uno cada 412 casos. En Cataluña, en un estudio selectivo, encontraron una incidencia de anemia falciforme de una cada 810 muestras analizadas en la población inmigrante y ningún caso en la población autóctona¹⁴, por lo que sugieren limitar el cribado de anemia falciforme a la población de riesgo. En la Comunidad de Madrid han realizado un estudio retrospectivo de los 3

Tabla 2 Estudios realizados en España sobre cribado de hemoglobinopatías estructurales

Autor y año	Localización y población seleccionada	Tamaño muestral	Incidencia de anemia falciforme y rasgo drepanocítico	Observaciones
Cela De Julián, 2007	Madrid Universal	190.238	Homocigotos: 1/7.316 (0,14/1.000) Heterocigotos: 1/259 (3,9/1.000)	Estudio prospectivo de los 32 primeros meses de implantación del programa de cribado neonatal
Dulín, 2006	Madrid Universal	154.149	Homocigotos: 1/6.165 (0,16/1.000) Heterocigotos: 1/294 (3,4/1.000)	Estudio prospectivo de los 24 primeros meses de implantación del programa de cribado neonatal
Manu-Pereira, 2006	Cataluña Selectivo	Población autóctona: 1.569 Población inmigrante: 1.620	Homocigotos en población autóctona: no se detectan Homocigotos en población inmigrante: 1/810 (1,23/1.000)	El estudio se realizó en recién nacidos de población autóctona y población inmigrante
Dulín, 2003	Madrid Universal	29.253	Homocigotos: 1/5.851 (0,17/1.000) Heterocigotos: 1/412 (2,4/1.000)	Estudio piloto en recién nacidos
Dulín, 1997	Madrid Universal	3.550	Homocigotos: no se detectan Heterocigotos: 1/710 (1,4/1.000)	Estudio piloto en recién nacidos
En este estudio	Islas Baleares Universal	6.756	Homocigotos: 1/6.756 (0,15/1.000) Heterocigotos: 1/199 (5/1.000)	Estudio piloto en recién nacidos

primeros años de implantación del programa de cribado de hemoglobinopatías, que ha permitido en un tamaño muestral de 190.238 recién nacidos detectar 1.060 variantes de Hb y de éstas 26 casos graves de HbS en homocigosis (uno de cada 7.316) y 732 casos en heterocigosis (uno de cada 259)¹⁷. Al comparar estos datos con los obtenidos en este estudio, se observa una incidencia ligeramente superior, tanto de homocigotos (uno de cada 6.756) como de heterocigotos (uno de cada 199) para HbS en la Comunidad, resultados que pueden deberse a la diferencia del tamaño muestral.

En los países desarrollados, el cribado neonatal se configura en el contexto de medidas de medicina preventiva incluidas en los programas de salud pública, que deben conducir a la intervención médica en beneficio del neonato.

Para que una determinada enfermedad se incluya en un programa de cribado neonatal debe cumplir los criterios dictados en 1975 por el Committee on Screening for Inborn Errors of Metabolism, Genetic Screening¹⁸, que consta de los 6 puntos siguientes: a) la enfermedad cursa con morbilidad mental o física grave o mortalidad si no se diagnostica en el período neonatal; b) un simple examen físico no identifica la enfermedad en este período; c) hay un tratamiento efectivo disponible; d) el tratamiento precoz mejora significativamente el pronóstico; e) la enfermedad tiene una incidencia relativamente elevada, superior a uno de cada 10.000 a 15.000 recién nacidos, y f) hay un test analítico de cribado, rápido, sencillo, fiable y de bajo coste.

El cribado de hemoglobinopatías en la Comunidad cumple estos criterios. Así, tanto la tasa global de variantes observadas como la incidencia de rasgo falciforme justifican plantearse la inclusión del estudio de hemoglobinopatías en el programa de cribado neonatal de la Comunidad y evitar la morbimortalidad con tratamientos preventivos de las crisis¹⁹ o con trasplante alogénico de médula ósea²⁰, tras el que un 85% sobrevive curado de la enfermedad²¹.

Un tema para debatir es si debería ser selectivo o no. Si se tiene en cuenta que la mortalidad en niños menores de 5 años ronda el 30%, que por esto el ANHI ya en 1987 recomendó realizar el cribado de anemia falciforme de forma universal⁸ y que algunos grupos consideran ineficaz el cribado selectivo frente al cribado universal^{22,23}, los autores de este artículo piensan que debería realizarse a toda la población, sobre todo si se tiene en cuenta la alta tasa de inmigración y los antecedentes históricos.

Agradecimiento

A los técnicos de laboratorio Carmen Toral (DUE) y Antonia Pardo (TEL).

Bibliografía

- Weatherall DJ, Pressley L, Wood WG, Higgs DR, Clegg JB. Molecular basis for mild forms of homozygous beta-thalassaemia. *Lancet*. 1981;1:527-9.
- Vives Corrons JL. Anemias por defectos congénitos de la hemoglobina. Hemoglobinopatías estructurales y talasemias. *Medicine*. 2001;8:2684-93.
- Modell B, Darlison M, Birgens H, Cario H, Faustino P, Giordano PC, et al. Epidemiology of haemoglobin disorders in Europe: An overview. *Scand J Clin Lab Invest*. 2007;67:39-69.
- Howard J, Davies SC. Sick cell disease in North Europe. *Scand J Clin Lab Invest*. 2007;67:27-38.
- Stuart MJ, Nagel RL. Sick cell disease. *Lancet*. 2004;364:1343-60.
- Hofmann M, De Montalembert M, Beauquier-Maccotta B, De Villartay P, Golse B. Posttraumatic stress disorder in children affected by sickle-cell disease and their parents. *Am J Hematol*. 2007;82:171-2.
- Ruano-Ravina A. Neonatal screening of hemoglobinopathies. *Med Clin (Barc)*. 2007;129:174-5.
- Consensus conference. Newborn screening for sickle cell disease and other hemoglobinopathies. *JAMA*. 1987;258:1205-9.
- Roberts I, De MM. Sick cell disease as a paradigm of immigration hematology: New challenges for hematologists in Europe. *Haematologica*. 2007;92:865-71.
- Dulín-Iñiguez E. Newborn screening for sickle cell anemia. *Med Clin (Barc)*. 2006;126:293-4.
- Dulín E, Romero M, Bertoli GL. Screening neonatal de hemoglobinopatías. Estudio preliminar. XXXIX Reunión Nacional de la AEHH. XIII Congreso de la SETH. *Haematologica*. 1997;82:3.
- Dulín IE, Cantalejo López MA, Cela de Julian ME, Galaron GP. Early detection of sickle cell anemia and other hemoglobinopathies in neonates in the Autonomous Community of Madrid. A pilot study. *An Pediatr (Barc)*. 2003;58:146-55.
- Joyanes B, Moro M, Ropero P, Briceno O, Dulín E, Villegas A. Screening of hemoglobinopathies in a cohort of newborns in Madrid. *Med Clin (Barc)*. 2006;126:290-2.
- Manu-Pereira MM, Maya A, Cararach V, et al. Neonatal screening of hemoglobinopathies and glucose-6-phosphate dehydrogenase in Catalonia. Pilot study in anonymous not related population. *Med Clin (Barc)*. 2006;126:281-5.
- Frempong T, Pearson HA. Newborn screening coupled with comprehensive follow-up reduced early mortality of sickle cell disease in Connecticut. *Conn Med*. 2007;71:9-12.
- Ruano-Ravina A, Jato-Díaz M, Cerda-Mota T. Newborn screening of hemoglobinopathies: Considerations on its application in Spain. *Med Clin (Barc)*. 2006;126:337-40.
- Cela de JE, Dulín IE, Guerrero SM, et al. Evaluation of systematic neonatal screening for sickle cell diseases in Madrid three years after its introduction. *An Pediatr (Barc)*. 2007;66:382-6.
- Culliton BJ. Genetic screening: NAS recommends proceeding with caution. *Science*. 1975;189:119-20.
- De MM, Aggoun Y, Niakate A, Szezepanski I, Bonnet D. Endothelial-dependent vasodilation is impaired in children with sickle cell disease. *Haematologica*. 2007;92:1709-10.
- Ortega Aramburu JJ. Anemia de células falciformes: Una enfermedad emergente en España. *An Pediatr*. 2003;58:93-4.
- Walters MC, Patience M, Leisenring W, et al. Bone marrow transplantation for sickle cell disease. *N Engl J Med*. 1996;335:369-76.
- Shafer FE, Lorey F, Cunningham GC, Klumpp C, Vichinsky E, Lubin B. Newborn screening for sickle cell disease: 4 years of experience from California's newborn screening program. *J Pediatr Hematol Oncol*. 1996.
- Panepinto JA, Magid D, Rewers MJ, Lane PA. Universal versus targeted screening of infants for sickle cell disease: a cost-effectiveness analysis. *J Pediatr*. 2000 February;136:201-8.