

## Investigación de Hemoglobinas anormales en población costarricense del Guanacaste

DR. GERMAN F. SÁENZ\*

DRA. MA. DE LOS ANGELES ALVARADO\*

DR. FERNANDO ATMETLLA\*

DR. GUIDO ARROYO\*

DR. RAFAEL JIMÉNEZ\*

SR. ELIÉCER VALENCIANO\*

Elizondo y Solano (10), en 1965, reportan por vez primera los hallazgos de enfermedades hemoglobinopáticas en la provincia de Guanacaste, con el hallazgo en particular de la entidad hemoglobínica S-C en una familia Santacruceña, de raza aparentemente blanca.

En 1966, Solano et al. (35), señalan los resultados de sus estudios sobre hemoglobinas anormales realizado en el distrito central de Santa Cruz. Un total de 227 muestras tomadas al azar fueron proporcionadas por el dispensario de la Caja Costarricense del Seguro Social allí establecido, encontrándose un 7.48% del patrón hemoglobínico anormal A-S, es decir, de la tara drepanocítica, y un 0.44% del estado homocigoto (S-S), lo cual da un porcentaje total de aproximadamente un 8% para el gene S.

Los autores en la discusión de su trabajo señalan que siendo la característica drepanocítica, o estado genético heterocigótico, observable entre el 7 y 9% de los negros americanos, el hallazgo de un 8% del gene S en una población no negra como la guanacasteca, es un hecho que llama la atención. Sin embargo, ya existen varias citas (11, 31) en donde, tal y como lo hacen ver los propios autores Solano et al. (35), queda aclarado que nuestra población guanacasteca ha estado sometida desde el siglo XVI a la influencia de inmigración de raza negra, e inclusive mulata y negroide, originaria de Cuba (9), situación semejante a lo ocurrido en algunas zonas costeras de México (19).

En 1967 Solano y Mainieri (34), reportan en un estudio llevado a cabo en el cantón de Liberia de la misma provincia de Guanacaste, un 4.82% de

---

\* Departamento de Análisis Clínicos, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

positividad para el patrón A-S, correspondiente a 26 muestras anormales, de un total de 539 especímenes, hallándose un único caso homocigótico S-S, lo cual da un porcentaje para este último doble carácter de un 0.18%. Los autores señalan algunas razones que podrían explicar las diferencias entre los resultados obtenidos en Santa Cruz (35) y los de Liberia, arguyendo entre otras cosas, el que este último cantón ha tenido una considerable inmigración nicaragüense, con ancestros de raza negra, que fueron empleados para trabajar en agricultura y ganadería, radicándose en forma más o menos permanente en las zonas de bajura, por lo que Liberia puede considerarse una región flotante. Asimismo ha contribuido también a que se encuentre menos mezcla racial en la población de esta zona, el hecho de que sus primeros pobladores fueron españoles que no permitieron a través de los años mezclas con los inmigrantes nicaragüenses a pesar de que era con quienes estaban más relacionados por las facilidades de las vías de comunicación. Además, la inmigración de individuos de raza blanca de la meseta central al Guanacaste se ha producido en especial hacia la zona de Liberia.

En 1968 Rivera y Sáenz (31), en un estudio efectuado en 13 poblaciones distribuidas en el territorio nacional, analizaron 947 muestras de adultos, siendo 166 de ellas de las regiones guanacastecas de Sardinal y Tilarán con un porcentaje global en ambas comunidades del 1.9% para el patrón A-S y de 0.7% para el patrón A-C.

Elizondo y Zomer (11) en 1970, en 1053 especímenes de sangre de individuos asegurados obtenidos en 5 áreas geográficas distintas del país encuentran en la zona correspondiente casi totalmente al Guanacaste, en 96 muestras, un 7.3% de hemoglobinas anormales, con 6.95% para el carácter drepanocítico y 1.04% para la tara dianocítica (A-C).

En 1971 Sáenz et al. (32) reportan sus hallazgos en individuos costarricenses de raza negra del área central de la ciudad de Limón, en donde fue obtenido un porcentaje para la tara drepanocítica de 8,2 y de 2.4% para el patrón A-C, en un total de 621 muestras. Los autores concluyen en que la frecuencia de los problemas hemoglobinopáticos de nuestra población de raza negra es de una magnitud semejante a la reportada en otras poblaciones negra o negroide de América y del Caribe (1, 2, 19, 26). No es de extrañar, entonces, que las características étnicas de nuestra provincia de Guanacaste, con población no negra biotipológicamente, pero con indudable mezcla de sangre negra, hayan provocado tanto interés para comprender mejor el estado real, o al menos aproximado, de la frecuencia y características de tales hemopatías en esa zona. Es por tal motivo que sale a la luz este trabajo que tiene como objetivo primordial ofrecer un panorama lo más completo posible acerca de la incidencia y las particularidades genéticas de las hemoglobinas anormales en una zona que, como Santa Cruz de Guanacaste, aparentemente presenta el problema en Costa Rica con caracteres relevantes.

## MATERIAL Y METODOS

Se analizaron 1702 muestras de sangre tomadas a individuos guanacastecos de las escuelas primarias y del colegio de secundaria del centro del cantón de Santa Cruz, con edades comprendidas entre los 4 y 45 años. Se destaca el hecho de que el 57,56% de la muestra estuvo constituida por mujeres y que un 98,35% eran menores de 20 años (cuadro 1). En el cuadro 2 se señala la distribución de las características raciales de la población estudiada, con la salvedad de que tal clasificación se hizo a *grosso modo* y tomando en cuenta un solo parámetro antropológico.

Cuadro 1

Distribución según edad y sexo de 1702 muestras analizadas

Clases (años)	Hombres	Mujeres
De 0 a menos de 5	20	22
De 5 a menos de 10	225	320
De 10 a menos de 15	320	388
De 15 a menos de 20	150	229
De 20 a menos de 25	8	4
De 25 a menos de 30	0	6
De 30 a menos de 35	0	1
De 35 a menos de 40	0	2
De 40 a menos de 45	0	7
<b>TOTAL</b>	<b>723</b>	<b>979</b>

Cuadro 2

Distribución porcentual de una única característica antropológica en la población estudiada

Color de la piel	Nº de casos	Porcentaje %
Aparentemente blancos	144	8.51
Café y chocolate	1.100	64.62
Pardo, mulato y negroide	442	25.96
Mestizos	16	0.94

Los especímenes fueron colectados con ACD, fórmula mejorada, e inositol, practicándose Hemoglobina a todos ellos de acuerdo con el método de la ciano-metahemoglobina. A todas las muestras se les efectuó, para mayor rapidez, hemolizado rápido que nos permitió trabajar un gran número de ellas en cada corrida electroforética. El método en cuestión, ligeramente modificado por nosotros, y sugerido por el Dr. Arends (4) es el siguiente: las muestras de sangre



se centrifugan a baja velocidad (1500 rpm) por 3 minutos. Con la ayuda de una pipeta Pasteur de fino calibre, se toman unas 4 gotas del sedimento eritrocítico las cuales se depositan en un tubo de hemólisis o de Kahn. Seguidamente se adicionan 4 gotas de una solución saponina-EDTA (saponina 1g, EDTA 0.5 g y H<sub>2</sub>O destilada c.b.p. 100 ml), mezclándose por agitación por unos 30 segundos. Hemos observado que si se deja la mezcla en congelación por unas cuantas horas se obtiene un hemolizado prácticamente de 100%. En todo caso los hemolizados obtenidos sin congelación dan excelentes resultados por la buena resolución de las diferentes fracciones hemoglobínicas, gracias al uso de membrana de poliacetato de celulosa (Sepraphore III). No omitimos manifestar que este procedimiento electroforético permite separar nítidamente la hemoglobina A de la fetal.

Para la electroforesis se utilizó un búffer de TRIS-EDTA-BORATO, pH 8.6, según la técnica del I.V.I.C. (4), la cual se describe a continuación:

*Solución stock pH 8.6:*

109 g de trisma base (tris (hidroximetil) amino metano)  
 30.92 g de ácido bórico (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>)  
 1.85 g de EDTA (Sal disódica-dihidratada)  
 agua destilada c.s.p. 1000 ml (guardar a 4° C)

*Solución de trabajo:*

Se emplearon dos soluciones búffer de diferente fuerza iónica en un sistema discontinuo, preparadas de la siguiente forma:

*Sol. A:*

- 1) 30 ml de la sol. stock
- 2) 450 ml de H<sub>2</sub>O dest.

*Sol. B:*

- 1) 30 ml de la sol. stock
- 2) 420 ml de H<sub>2</sub>O dest.

La sol. A se coloca en el lado del ánodo (+) y la sol. B en la del cátodo (—).

*Procedimiento para la electroforesis*

Las cintas de acetato de celulosa se colocan en una mezcla a partes iguales de las soluciones A y B durante 5 a 10 minutos.

Las muestras se aplican por medio de capilares no heparinizados y la electroforesis se corre por 35 a 40 minutos a 500 voltios, utilizándose la cámara electroforética Gelman De Luxe. La fijación y tinción se hace con solución colorante Ponceau en ácido tricloroacético. Cuando fue pertinente, las cintas se aclararon con mezcla de ácido acético y metanol absoluto.

Para cuantificar los patrones anormales que se obtuvieron se siguió la misma técnica y metodología electroforética, preparándose la solución de hemoglobina según el método de Singer et al. (33), substituyéndose únicamente el tolueno por cloroformo (40).

La inducción de drepanocitos se hizo con metabisulfito de sodio al 2% en pipetas de leucocitos y con una dilución 1:10 de las muestras. Las preparaciones se incubaron por 1 hora a 37° C con posterior lectura de las mismas entre lámina y laminilla. Para la determinación de la inestabilidad de la hemoglobina al calor se aplicó el método de Dacie et al. (8), ligeramente modificada por Nagel et al. (25).

Para la identificación química de algunas de las variantes de hemoglobina detectadas por electroforesis se aplicó la prueba de solubilidad de Hunstman et al. (14), con especial hincapié en diferenciar los patrones S-S y A-S de los D-D y A-D.

La cuantificación de las fracciones electroforéticas se hizo por densitometría con el integrador Gelman modelo 9338.

Para la cuantificación colorimétrica de hemoglobina fetal se siguió el método de Singer et al. (33). Para dilucidar o corroborar patrones electroforéticos compatibles con Hb C, se utilizó la prueba de cristalización de Ringelham y Khorsandi (30).

## RESULTADOS

En el cuadro 3 se indica la distribución, según edad y sexo, de los 163 casos que resultaron positivos para patrones hemoglobínicos anormales, correspondiendo 131 (aproximadamente 81%) a individuos tentativamente clasificados como de color café, mulato, chocolate, pardo o negroide, 28 a los aparentemente blancos (aproximadamente 17%) y 3 casos a mestizos (aproximadamente 2%).

El cuadro 4 muestra los hallazgos electroforéticos de las 1072 muestras analizadas, evidenciándose un 8.87% para el patrón electroforético A-S (151 casos), 0.29% para el A-C (5 casos), 0.23% para el A-F (4 casos), 0.11% el S-S (2 casos) y 0.05% del S-C (un caso), con un total de hemoglobinas anormales de 9.59% y, obviamente, un 90.41% para el genotipo normal A-A.

La cuantificación de los patrones anormales se hizo densitométricamente y sus resultados serán discutidos en la sección pertinente. A pesar de que aplicamos el método químico para cuantificar hemoglobina F, no consignamos los resultados, toda vez que no logramos una buena concentración de los hemolizados al menos de 10 g%, tal y como lo exige el procedimiento en cuestión. En ningún caso se encontró presencia de hemoglobina inestable.

Se encontró una excelente y total correlación de los resultados electroforéticos tipo A-S, SS y S-C con la prueba de la solubilidad de la ferrohémoglobina de Huntsman et al. (14). Estos hallazgos nos permitieron por lo tanto descartar cualquier patrón A-D, D-D o C-D. No podemos decir lo mismo en relación con la comparación de las pruebas anteriores y la de inducción de drepanocitos por el metabisulfito. En términos generales podemos afirmar que 5 casos fueron negativos, es decir falsamente negativos, y que en un 20% los hallazgos fueron dudosos o inconspicuos, con un 0.5% a 1% de células positivas que se identificaron precisamente por cuanto ese era nuestro interés, por lo que en condiciones rutinarias, es muy posible que tales casos pasen lamentablemente inadvertidos.

Cuadro 3

Distribución por edad y sexo de 163 casos positivos para Hemoglobinas anormales

Clases (años)	Hombres	Mujeres
De 0 a menos de 5	2	6
De 5 a menos de 10	30	20
De 10 a menos de 15	29	40
De 15 a menos de 20	9	23
De 20 a menos de 25	0	2
De 25 a menos de 30	0	0
De 30 a menos de 35	0	0
De 35 a menos de 40	0	0
De 40 a menos de 45	0	2
	70	93

Cuadro 4

Frecuencia y distribución porcentual de Hemoglobinas en la población estudiada

Sexo	Nº de Examinados	Patrón electroforético					
		A-A	A-S	S-S	S-C	A-C	A-F
Hombres	723	653(90,3 %)	66(9,12%)	0(0,0 %)	1(0,13%)	2(0,27%)	1(0,13%)
Mujeres	979	886(90,50%)	85(8,68%)	2(0,2 %)	0(0,0 %)	3(0,30%)	3(0,30%)
TOTALES	1702	1539(90,41%)	151(8,87%)	2(0,11%)	1(0,05%)	5(0,29%)	4(0,23%)

#### DISCUSION

Los resultados que se relatan en este trabajo no dejan duda alguna sobre la importancia que tienen en nuestro medio las condiciones hereditarias debidas a hemoglobinas anormales. El encontrar un 8.87% de la tara drepanocítica y un total de 9.59% de hemoglobinopatías, en una población como



la estudiada, nos ofrece un cuadro de gran importancia por lo que se debería insistir ante las autoridades sanitarias del país que conocer el problema médico y de laboratorio de las hemoglobinopatías ya no es sólo responsabilidad del especialista en Hematología, sino de todo aquel que ejerce la medicina, tanto clínica y quirúrgica como de laboratorio. Y diríamos inclusive, que también de aquellos funcionarios que se dedican a la enseñanza a todo nivel.

Elizondo y Zomer (11), han reportado en población asegurada del país un total de 2.2% hemoglobinopatías, destacándose en ese trabajo, obviamente, una preponderancia manifiesta del patrón A-S, combinación heterocigótica que, por otra parte, fundamentalmente prevalece en las zonas de Limón (32) y de Guanacaste (11, 34, 35). La condición homocigótica S-S, sin hemoglobina fetal cuantificable, demostrada en dos de nuestros casos positivos, nos da una proporción de un caso S-S- por cada 75 heterocigotos, cifra diferente a lo encontrado en la población de raza negra norteamericana en donde la relación parece ser 1:400 (22). Es bien evidente el problema médico de la drepanocitosis con sólo observar algunos datos aportados por la organización Mundial de la Salud (26), que señalan a la enfermedad como una anemia que afecta alrededor del 1% de todos los niños que nacen en el Africa Tropical causando su muerte a temprana edad, siendo asimismo una hemoglobinopatía responsable de la muerte aproximada de 80.000 jóvenes al año en aquella extensa zona geográfica.

Menciona el referido informe de la OMS la importancia que en salud pública tienen estos problemas hereditarios y que el verdadero significado de estos desórdenes a menudo no son atendidos como se le merecen ni se conoce su magnitud, aún en países donde ellos asumen una alta proporción, por lo que tal y como sucede con otras enfermedades que regularmente se mantienen bajo control, las hemoglobinopatías y desórdenes relacionados, como la deficiencia de G-6-PD, se observarán en el futuro con más frecuencia. Por mucho tiempo se han considerado las formas heterocigotas de las hemoglobinopatías como completamente inocuas. Sin embargo, se ha señalado que la tara drapanocítica (A-S) en determinadas circunstancias puede predisponer al organismo a sufrir infartos en diferentes órganos, especialmente del bazo, durante vuelos aéreos en aviones que no tienen la cabina apresorizada o cuando los pacientes se han encontrado bajo anestesia (39), no siendo infrecuente la muerte en individuos de raza negra durante o inmediatamente después de una cirugía abdominal mayor (20). Estas situaciones han hecho que día con día se impongan métodos rápidos que permitan detectar hemoglobina S en pacientes de raza negra, parda o negroide, y en este sentido, ninguna ha sido de más valor que la prueba rápida y específica de solubilidad de Huntsman et al. (14), precisamente investigada y propuesta para satisfacer las crecientes demandas de cirujanos y anestesiólogos. Otro hecho importante en la hemoglobinopatía S-S, como también en muchos casos de A-S, es un defecto renal para concentrar orina (16). La patogénesis de la hematuria y de la hipostenuria no se ha explicado satisfactoriamente (17, 28), sin embargo, el fenómeno sucede con diferente grado de severidad al comparar el carácter homocigótico (SS) con el heterocigótico (A-S), aunque en ambos casos la sickleemia ocurre en los capilares médulo-renales (37), como resultado de la combinación de una reducción de la tensión de oxígeno, de la hiperosmolaridad y del pH reducido (18).

En heterocigotos, también se ha descrito (15) muerte súbita mientras el portador se encontraba bajo un ejercicio físico exagerado, considerándose, al igual de lo que sucede en vuelos aéreos, que la anoxia, la deshidratación y la acidosis sean probablemente responsables de esos ataques (18). Asimismo,

se puede limitar la viabilidad de las personas portadoras de este carácter (A-S) que viven en grandes altitudes (7). La sickleemia también puede provocarse en enfermedad pulmonar severa y en depresión respiratoria (alcoholismo agudo, anestesia profunda) (12, 21). Se ha sugerido una posible relación del carácter heterocigota con cardiomiopatía "primaria" (12). Otras manifestaciones de la enfermedad drepanocítica (S-S) ocasionalmente son encontradas en personas A-S, presumiblemente como resultado de una desoxigenación local y sickleemia intravascular (6). Las manifestaciones clínicas y la patología de la drepanocitosis, es decir de la enfermedad homocigótica, son sumamente variadas y graves y escapan al interés de este trabajo, aunque no está por demás afirmar que es la más severa anemia hemolítica dentro del grupo de hemopatías provocadas por mutación de hemoglobina A, habiendo sido el desorden hematológico que sirvió de ejemplo a Pauling et al. (27) para ejemplarizar la primera enfermedad molecular en medicina en 1949.

Un aspecto interesante en este punto de la discusión, es el referente a las concentraciones de hemoglobinas A y S en las sangres de los pacientes heterocigotas. Solano et al. (35) han reportado en nuestro medio y en muchos casos, valores de hemoglobina S en heterocigotos de más de un 50%, inclusive 61% en casos particulares. Este hecho nos ha llamado la atención, pues en la literatura se señala que la hemoglobina S en pacientes A-S se encuentra en un rango que va del 30% al 45%, refiriendo Motulsky et al. (24) valores para tal hemoglobina de 24-45% y, conducentemente para hemoglobina A, de 55-76%, cifras aceptadas universalmente como propias del patrón A-S y que se ajustan a lo encontrado por nosotros en 20 muestras analizadas en donde el valor promedio para hemoglobina A fue 60% y para S de 40%. Esta disgregación al tema de la discusión la consideramos pertinente para evitar confusiones interpretativas de una condición hereditaria que presenta tales proporciones de ambas hemoglobinas, al menos dentro del marco del análisis cuantitativo diferencial de dos tipos de hemoglobinas circulantes en un momento dado (5).

A diferencia de la estrecha relación de nuestros hallazgos del gene S tanto en Limón (8.2%) (32), como en Santa Cruz de Guanacaste (8.87%), lo encontrado en cuanto a hemoglobina C muestra una diferencia sustancial, pues mientras en nuestra provincia del Atlántico lo fue del 2.4%, en Guanacaste ha sido del 0.29%. La enfermedad homocigótica C-C se considera una anemia hemolítica ligera o moderadamente severa, con ictericia recurrente y en ocasiones agravada por hiperesplenismo (18, 40). En nuestro medio nunca se ha reportado la forma homocigótica, que es realmente rara. En lo heterocigotos 60-75% de la hemoglobina es A mientras 25-40% lo es por hemoglobina C (24), valores que concuerdan estrechamente con los nuestros en donde el promedio de hemoglobina A fue 60% y 40% para hemoglobina C. Se considera que el portador del carácter, es decir el A-C, no presenta manifestaciones clínicas ni complicaciones. Este tipo de hemoglobinopatía ocurre, al igual que la S, casi exclusivamente en raza negra, señalándose una incidencia de heterocigotos en los Estados Unidos del 2 al 3% (18), y en Venezuela del 2.7% (1).

Las defensas genéticas contra el paludismo corren a cargo únicamente de los polimorfismos de las hemoglobinas (7), hecho sobresaliente en las mutantes de hemoglobina A, tales como S, C, E y síndromes talasémicos (23, 26). Se ha observado que la alta incidencia de los genes S y C, corre paralela, al igual que la deficiencia de G-6-PD, con la distribución de la malaria producida por *Plasmodium falciparum*, por lo que los "genes antimaláricos" S y C constituirán una protección contra la malaria, siendo a su vez el paludismo un importante factor en la extensión de esos genes mutantes que afectan a los eritrocitos (38). Al respecto, expresa el Dr. Coon (7), Profesor de Antropología de la Univer-



sidad de Pensilvania: "en aquellas zonas en que coexisten varios polimorfismos antipalúdicos, comprometidos todos ellos en la lucha contra la malaria, se establece entre ellos un equilibrio. Los polimorfismos más potentes se hacen más minuciosos allí donde la enfermedad es más grave. Cuando la enfermedad ha empezado a disminuir, los agentes protectores de intensidad media toman la delantera, debilitando así progresivamente las defensas hasta que todos llegan eventualmente a desaparecer. Todo ello es un mecanismo satisfactorio, ya que una defensa de este tipo es una carga cada vez más pesada para la población, que se ha de reducir mediante la selección natural a medida que la necesidad de ella va desapareciendo. En resumen, el paludismo elimina algunos individuos y debilita otros. No obstante, las defensas genéticas del individuo contra el paludismo, aunque también un poco debilitadoras por sí mismas, mantienen o ayudan a crear su raza". Puede decirse, finalmente, con bastante seguridad, que la distribución de los genes S y C, como también de la deficiencia de G-6-PD, está estrechamente asociada a la del paludismo falciparum en el sentido de que en todas las regiones en donde son frecuentes estas anomalías genéticas, son o han sido regiones de intensa endemicidad palúdica (23).

De acuerdo con la prueba de Ringelmann y Khorsandi (30) para la diferenciación de los genotipos SC y CC del SS, encontramos que la misma dio negativa en todos los patrones A-C, como era de esperarse, no así en el único caso S-C que hallamos en la población estudiada. La cristalización de la hemoglobina C en este caso particular fue evidente y con las características descritas por los autores.

Al respecto, es conducente señalar que esta enfermedad hemoglobínica, doble heterocigótica (S-C), se comporta como una anemia menos grave que la drepanocítica, pero severos episodios de crisis pueden ocurrir en algunos pacientes así como el embarazo puede asociarse con serias complicaciones, tal vez mayores que en S-S (26). Es explicable que en gran parte los síntomas de esta enfermedad estén estrechamente relacionados con la concentración de HbS. Motulsky et al. (24) señalan que el patrón común es 50% de C y 50% de S, aunque la distribución cuantitativa de ambas hemoglobinas anormales puede llegar a ser de 33-50% para hemoglobina S y de 50-67% de hemoglobina C. En nuestro único genotipo S-C, se encontró un 53% de S y 47% de C.

Hecho interesante fue el hallazgo de 4 casos de patrones electroforéticos A-F, en donde el componente fetal comprendió valores de 17, 20, 36 y 40%, descartándose tentativamente talasemia beta con hemoglobina F alta, hemoglobinopatía muy infrecuente, por cuanto los niveles de hemoglobina se encontraron dentro de límites normales. Se trata pues, aparentemente, de 4 casos heterocigóticos de un desorden hereditario con persistencia de hemoglobina F, siendo, asimismo, los primeros casos que se reportan en el país. Se trata éste de un raro desorden en el cual un 15-35% de hemoglobina F persiste en la vida adulta de individuos fundamentalmente de raza negra, sin que medien secuelas de anemia (12, 21). Los pacientes homocigotos para esta condición (F-F) no producen hemoglobina A ni hemoglobina A<sub>2</sub> y no son tampoco anémicos (5). El hallazgo heterocigótico es de aproximadamente en el 1 por 1000 de los negros americanos (12). A veces se presentan niveles elevados de hemoglobina F en combinación ya no sólo con hemoglobina A, sino también con la S y C, considerándose que el gene determinante de aquella anomalía puede ser alelo con los genes de estas hemoglobinas anormales (36). Definitivamente no se encuentra hemoglobina A cuando el gene que determina la persistencia de hemoglobina fetal se hereda conjuntamente con otro gene de hemoglobina anormal, de tal suerte que estos dobles heterocigotos pueden

entonces ser anémicos (36). Recuérdese que en la drepanocitosis (S-S) la cantidad de hemoglobina F puede ser tan alta como un 25% (24), señalándose que personas que son heterocigotas para hemoglobinas S y para el gene que condiciona persistencia de hemoglobina F, no demuestran evidencia de desorden hemolítico, a pesar de que sus células rojas pueden llegar a contener hasta un 70% de hemoglobina S, aduciéndose que la alta concentración de hemoglobina F ejerce un efecto protector, hecho que no ocurre en drepanocíticos con alta concentración de hemoglobina F (6). Arends (3) ha recopilado los pocos informes que sobre el gene de persistencia fetal se han señalado en América, y el Caribe. Estos interesantes hallazgos de la persistencia hereditaria de la hemoglobina fetal, serán posteriormente reportados con base en un estudio familiar que realizamos al presente.

La búsqueda de hemoglobinas inestables dio resultado negativo en 960 muestras estudiadas de acuerdo con el método de Dacie et al. (8) ligeramente modificado por Nagel et al. (25), basado en una simple prueba térmica en la cual hemolizado y búffer de barbital a pH 8.6 se incubó por 1 hora a 56° C. Las hemoglobinas inestables son desórdenes raros, descritos en forma heterocigótica, y fundamentalmente en raza blanca, que se caracterizan por una desnaturalización del pigmento intracelularmente, formándose cuerpos de inclusión que abrevian la vida del eritrocito (13). Cuando una gran cantidad de hemoglobina es precipitada dentro de los eritrocitos a manera de cuerpos de Heinz, (29), ello usualmente se debe a la exposición a alguna droga o medicamento, provocándose una hemólisis rápida (6), con características clínicas y químicas semejantes al desencadenamiento hemolítico que ocurre en la deficiencia de G-6-PD por drogas oxidantes (36). Finalmente, este trabajo permite concluir que la alta prevalencia de hemoglobinas anormales demostrada en trabajos anteriores y ahora reiterada con una muestra de 1702 casos, nos ofrece un cuadro de interés médico indiscutible, toda vez que encontrar un 9,59% de hemoglobinopatías en la zona estudiada nos pone en claro la existencia de un problema de salud pública digno de tomarse en cuenta.

#### R E S U M E N :

En 1702 muestras sanguíneas obtenidas de estudiantes de primaria y secundaria del área central del cantón de Santa Cruz, Guanacaste, se encontró 163 con hemoglobina anormal (9,59%), de los cuales la frecuencia de la hemoglobinopatía "S-S" fue de 2 casos (0,11%), "A-S" 151 casos (8,87%), "A-C" 5 casos (0,29%), "A-F" 4 casos (0,23%) y "S-C" 1 caso (0,05%). Se hace ver la importancia del problema médico de estas condiciones hematológicas y en especial del frecuente genotipo A-S. Se destaca el valor de la prueba de solubilidad para la demostración rápida de hemoglobina S, y la poca sensibilidad de la que provoca inducción de drepanocitos. No se encontró hemoglobina inestable en los casos estudiados.

#### *Agradecimiento*

Los autores agradecen a la Caja Costarricense de Seguro Social y al Centro Internacional de Investigación y Adiestramiento Médico de la Universidad del Estado de Louisiana (LSU-ICMRT) su valiosa colaboración, que hizo posible la realización del presente trabajo.



## ABSTRACT

A total of 163 (9,59%) abnormal hemoglobins were found in 1.702 grammar and high school children examined in Santa Cruz, Guanacaste, Costa Rica. Of these, 2 cases (0.11%), "S-S"; 151 cases (8.87%), "A-S"; 5 cases (0.29%), "A-C"; 4 cases (0.23%), "A-F"; 1 case (0.05%), "S-C". The medical importance of these hematological conditions is emphasized, especially the frequency of the "A-S" genotype. For rapid discovery of "S" hemoglobins the solubility test is preferred over the less sensitive method which induces production of drepanocytes. No instable hemoglobins were found in the cases studied.

## BIBLIOGRAFIA :

- 1.—ARENDS, T.  
Frecuencia de hemoglobinas anormales en poblaciones humanas suramericanas. *Acta Cient. Venez. Supl.* 1:46-57, 1963.
- 2.—ARENDS, T.  
Haemoglobinopathies thalassaemia and glucose-6-phosphate deficiency in Latin America and the West Indies. *N. Zeal. Med. J. Suppl.*, 65:831-844, 1966.
- 3.—ARENDS, T.  
Hemoglobinopathies and enzyme deficiencies in latin american populations. Chapter 16. Reprinted from *The Ongoing Evolution of Latin American Populations*, Copyright by Charles C. Thomas, Publisher, 1971.
- 4.—ARENDS, T.  
Comunicación personal, 1971.
- 5.—BANK, A., & P. MARKS.  
Genetic control of hemoglobin Synthesis and thalassaemia syndromes *Med. Clin. N. A.*, 53:875-885, 1969.
- 6.—CONLEY, L., & S. CHARACHE.  
Mechanisms by wich some abnormal hemoglobins produce clinical manifestations. *Seminars in Roentgenology*, 2:53-71, 1967.
- 7.—COON, C.  
*Las razas humanas actuales*, XVI, 539 pp. Ediciones Guadarrama, S. A., Madrid, 1969.
- 8.—DACIE, J. V., A. J. GRIMES, A. MEISLER, L. STEINGOLD, E. H. HEMSTED, G. H. BEAVEN & J. C. WHITE.  
Hereditary Heinz-body anemia. A report of estudies on five patients with mild anemia. *Brit. J. Haemat.* 10:388-392, 1964.
- 9.—DELGADO, U.  
*Maceo en Costa Rica*, 83 pp. Imp. Nacional, 1969.
- 10.—ELIZONDO, J., & L. SOLANO.  
Hemoglobinopatía S-C. Estudio de una familia costarricense. *Acta Méd. Cost.*, 8:15-22, 1965.



- 11.—ELIZONDO, J., & M. ZOMER.  
Hemoglobinas anormales en la población asegurada costarricense, *Acta Méd. Cost.*, 13:249-255, 1970.
- 12.—HARRIS, J. W. & R. W. KELLERMEYER.  
The Red Cell. XXI + 795 pp. Revised edition, Harvard University Press, Cambridge, 1970.
- 13.—HELLER, P.  
Hemoglobinopathic dysfunction of the Red cell. *Am. J. Med.*, 41:799-814, 1966.
- 14.—HUNTSMAN, R. G., G. P. T. BARCLAY, D. M. CANNING, & G. I. YAWSON.  
A rapid whole blood solubility test to differentiate the sickle-cell trait from sickle-cell anaemia. *J. Clin. Path.*, 23:781-783, 1970.
- 15.—JONES, S. R., R. A., BINDER, E. M. DONOWHO.  
Sudden death in sickle-cell trait. *New Engl. J. Med.*, 282:323-325, 1970.
- 16.—KEITEL, H. G., D THOMPSON, & H. A. ITANO.  
Hyposthenuria in sickle cell anemia: a reversible renal aspect. *J. Clin. Invest.*, 35:998, 1956.
- 17.—KNOCHEL, J. P.  
Hematuria in sickle cell trait. *Arch. Int. Med.*, 123:160, 1969.
- 18.—LEAVELL, B. S., & O. A. THORUP.  
Fundamentals of Clinical Hematology, 3<sup>rd</sup> Ed., XIV + 659 pp. W. B. Saunders Co. Philadelphia, Pa., 1971.
- 19.—LISKER, R.  
Características genéticas de la población mexicana, p. 229. En IV Simposio Panamericano de Farmacología y Terapéutica, México Excerpta Médica Foundation, N. Y., 1967.
- 20.—LOH, W. P.  
Evaluation of a rapid tube turbidity test for the detection of sickle cell hemoglobin. *Amer. J. Clin. Path.* 55:55-75, 1971.
- 21.—MAIZELS, M. I., A. J. PRANKER & J. D. M. RICHARDS.  
Hematology in diagnosis and treatment VII + 319 pp, Bailliere Tindall and Cassell, London, 1968.
- 22.—MARGOLIS, M. P.  
Sickle cell anemia. A composity study and survey. *Medicine.* 30:357, 1951.
- 23.—MOTULSKY, A.  
Contributions of hereditary disorders of red cell metabolism to human genetic, p. 303-328 en Ernest Beutler, ed., Hereditary Disorders of Erythrocyte Metabolism. Grune & Stratton, New York and London, 1968.
- 24.—MOTULSKY, A. G., M. H. PAUL, & E. L. DURRUM.  
Paper electrophoresis of abnormal hemoglobins and its clinical applications. A simple semiquantitative method for the study of the hereditary hemoglobinopathies, *Blood* 9:897-910, 1954.
- 25.—NAGEL, R., R. RANNEY, T. BRADLEY, A. JACOBS & L. UDEM.  
Hemoglobin L. Ferrara in a Jewish Family Associated with a hemolytic state in the propositus, *Blood* 34:157-165, 1969.

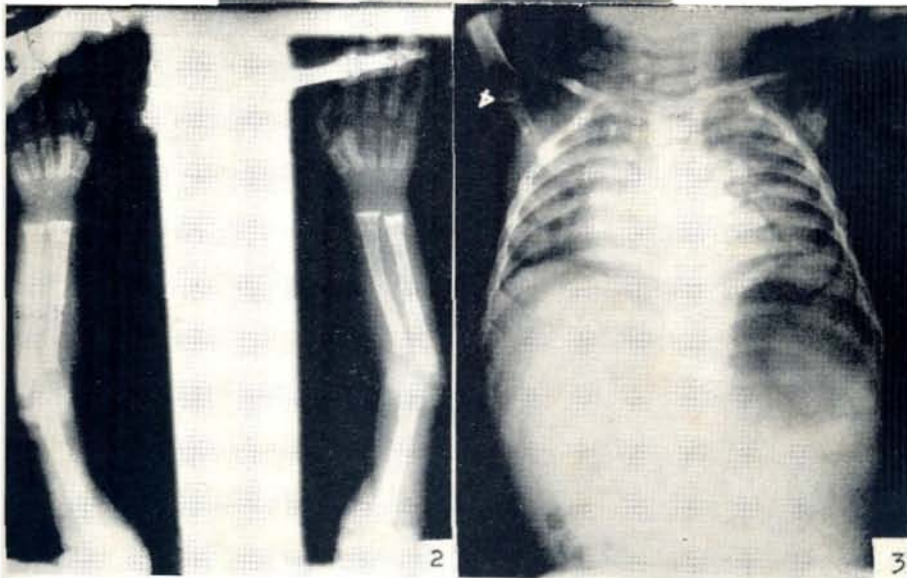
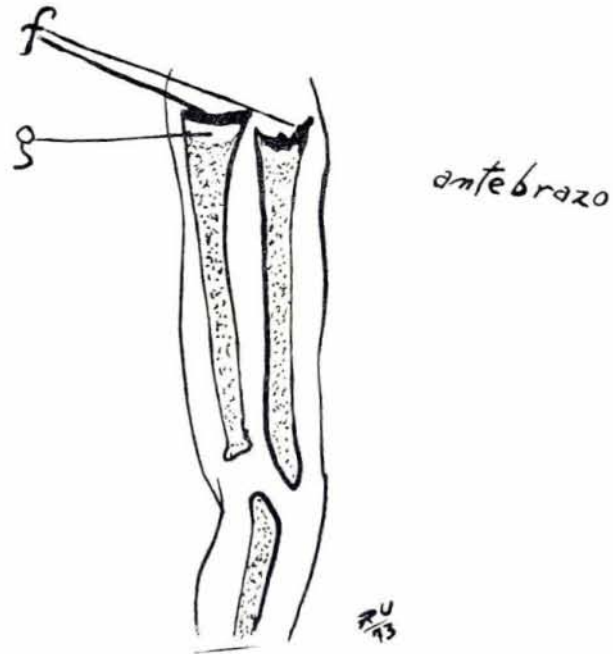
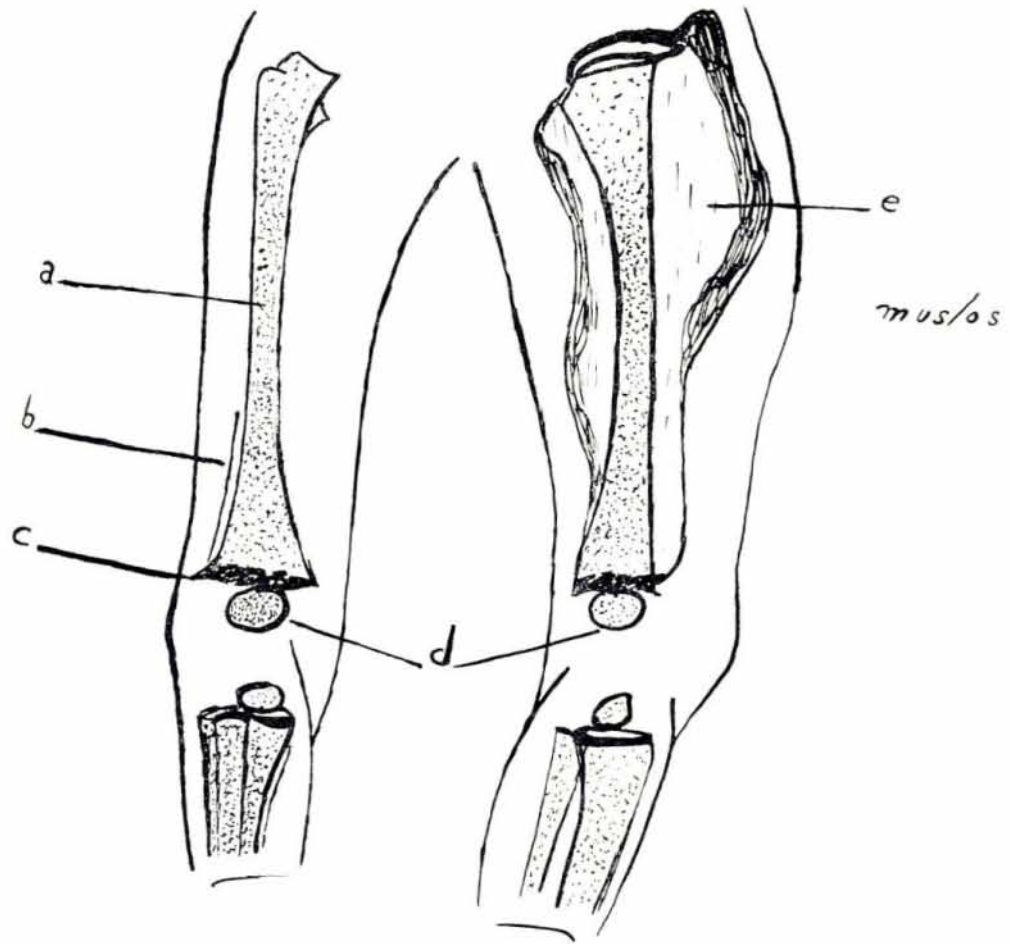


Fig. 4.—Diagrama de las fotografías 1 y 2. a) Osteoporosis. b) Separación perióstica. c) Espolón de Pelkan. d) Anillos de Wimberger. e) Gran hematoma subperióstico. f) Línea densa de Fraenkel. g) Línea "escorbútica".





4

RU  
73

- 26.—ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD.  
Haemoglobinopathies and Allied Disorders. Wld. Hlth. Techn. Rep. Ser., 338, 1966.
- 27.—PAULING, L., H. A. ITANO, S. J. SINGER & I. C. WELLS.  
Sickle Cell anemia, a molecular disease *Science*, 110:543-548, 1949.
- 28.—PERILLIE, P. E., & F. H. EPSTEIN.  
Sickling phenomena produced by hypertonic solutions: a possible explanation for the hyposthenuria of sickle cell anemia. *J. Clin. Invest.*, 42:570. 1963.
- 29.—RANNEY, H. M.  
Clinically important variants of human hemoglobin. *New Engl. J. Med.*, 282:144-152, 1970.
- 30.—RINGELHAMM, B. & M. KHORSANDI.  
Hemoglobin crystallization test to differentiate cell with Hb SC and CC genotype from SS cells without electrophoresis. *Am. J. Clin. Pathol.* 57:467-470. 1972.
- 31.—RIVERA, A., & G. F. SÁENZ.  
Datos numéricos y estadísticos mínimos sobre la incidencia de hemoglobinas anormales en Costa Rica, *Rev. Med. Hosp. Nac. Niños*, 3:95-106, 1968.
- 32.—SÁENZ, G. F., G. ARROYO, A. GUTIÉRREZ, E. BRILLA, E. VALENCIANO, J. JIMÉNEZ & M. BARRENECHEA.  
Investigación de hemoglobinas anormales en población de raza negra costarricense. *Rev. Biol. Trop.*, 19:251-265, 1971.
- 33.—SINGER, K., A. I. CHERNOFF & L. SINGER.  
Studies on abnormal hemoglobins. I. Their demonstration in sickle cell anemia and other hematologic disorders by means of alkali denaturation. *Blood*, 6:413-428, 1951.
- 34.—SOLANO, L., & F. MAINIERI.  
Estudio sobre drepanocitosis y Hemoglobina "S" en Liberia, Guanacaste. *Acta Méd. Cost.*, 10:175-180, 1967.
- 35.—SOLANO, L., M. CABEZAS & L. ELIZONDO.  
Estudio sobre drepanocitosis y hemoglobina "S" en Santa Cruz de Guanacaste. *Acta Méd. Cost.*, 9:59-66, 1966.
- 36.—SMITH, C. H.  
*Hematología pediátrica XVIII* + 741 pp. Salvat Edit. S. A., Barcelona, 1969.
- 37.—STATIUS VAN EPS, L. W., C. PINEDO-VEELS, G. H. DE VRIES & J. DE KONING.  
Nature of concentrating defect in sickle-cell nephropathy. *Microradioangiographic studies*, *Lancet*, 1:450-451, 1970.
- 38.—THOMPSON, J. S. & M. THOMPSON.  
*Genética Médica. XII* + 351 pp. Salvat Edit., S. A., Barcelona, 1968.
- 39.—WALLET, L., & J. B. ROBINSON.  
*Human Haemoglobin variants and their identification*, X + 56 pp. Butterworth & Co., London.