

## Diagnóstico prenatal de la anemia a hematies falciformes

Por los Dres.:

KLAUS ALTLAND,\* LUIS HEREDERO<sup>2</sup>

Altland, K., et al. *Diagnóstico prenatal de la anemia a hematies falciformes*. Rev. Cub. Ped. 46: 3, 1974.

Se presenta un análisis sobre la necesidad y el posible uso del diagnóstico prenatal para evitar el nacimiento de niños sickléimicos, así como las dificultades del método, y el riesgo que implica una punción placentaria para el desarrollo futuro del embrión. Se presenta un cálculo de los posibles nacimientos de niños homocigóticos para la Hb S (fenotipo de Hb SS) por cada año, en Cuba.

La sickle cell anemia es la enfermedad hereditaria más frecuente en Cuba, su pronóstico es fatal en un alto porcentaje de los casos, y el tratamiento, como hemos discutido durante este Taller, no es más que paliativo. Por esto en este momento, la única forma disponible para disminuir la sickle cell anemia como problema médico y social, parece consistir en la reducción del nacimiento de enfermos.

El objetivo del consejo genético es convencer a los padres de familias con alto riesgo a renunciar totalmente a la procreación, y así evitar el riesgo (25%) de tener un hijo enfermo. Ofrecer un consejo de tal tipo por el médico, es decir, detectar las familias por los métodos discutidos aquí y explicar la situación a los padres, es rela-

tivamente fácil, pero el cumplimiento por parte de los padres es difícil y necesita en alto grado la ayuda de la comunidad; *renunciar a la familia es un problema social*.

Teóricamente el médico puede evitar este problema social aplicando el método del diagnóstico prenatal, permitiendo así a los padres tener una familia sana. Sin embargo, en este momento existen problemas parcialmente difíciles respecto a la realización de este método.

Lo más fácil parece consistir en la determinación del fenotipo de muestras de sangre fetal según la técnica desarrollada por Kan y colaboradores.<sup>2</sup> Las muestras obtenidas mediante punción placentaria (donde exista una mezcla de glóbulos rojos maternos y fetales) son incubadas con aminoácidos radiactivos. Como que solamente los glóbulos rojos fetales tienen una alta capacidad de síntesis *di novo* de hemoglobina, los aminoácidos radiactivos serán incorporados

\* Departamento de Genética Médica, Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón", Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de La Habana.

solamente a las hemoglobinas del feto y de esta forma se pueden diferenciar de las hemoglobinas maternas. La posterior conversión en globinas y la separación de las cadenas Alfa, Beta A, Beta S y Gamma mediante cromatografía en C-M celulosa en presencia de Urea 8 Molar y Dithioerytreitol, método de Clegg y colaboradores,<sup>1</sup> permitirían determinar el fenotipo fetal en base a la radiactividad específica de las cadenas polipeptídicas Beta A y Beta S.

Según los cálculos de Kan y colaboradores<sup>2</sup> es posible hacer el diagnóstico en fetos de 15 semanas en muestras de 10 microlitros aproximadamente de sangre fetal, incluyendo la contaminación con sangre materna.

Los primeros experimentos en nuestro laboratorio han demostrado una buena reproducibilidad de los experimentos de Kan y colaboradores.<sup>2</sup> Creemos además, que no existen dificultades bioquímicas para incluir este método en un programa preventivo de la sickle cell anemia. Debemos señalar que la utilización del método necesita un alto grado de experiencia por parte de los investigadores, y el costo en aparatos de laboratorios y reactivos químicos es elevado.

Para lograr una planificación de estos métodos de prevención es necesario conocer el número de diagnósticos prenatales a realizar cada año, sin embargo, no poseemos los datos del número de recién nacidos sick'émicos por año, el número total de familias con alto riesgo en edad reproductiva y el promedio de nacimientos en estas familias por año. Como único dato tenemos el número total de nacimientos por año según las regiones y provincias de nuestro país, el promedio de la incidencia de portadores del fenotipo AS de hemoglobina en la población de La Habana y la información de que el alelo S, que produce la síntesis de Hb S ha llegado a Cuba con la población negroide, y que la misma sólo se ha mezclado parcialmente con la población no negroide presente en nuestro país.

En base a estos datos podemos hacer algunos cálculos en la forma siguiente:

Sea  $N_0$  el número de individuos en la población,  $C_0$  la proporción del genoma negroide en esta población,  $C$  la proporción del genoma negroide y  $1 - C$  la proporción del genoma no-negroide en la generación paternal,  $Q$  la frecuencia génica del alelo S en el genoma negroide y  $q$  la frecuencia génica del alelo S en el genoma no negroide.

La frecuencia del alelo S es  $CQ + q(1 - C)$ . La incidencia  $\downarrow(SS)$  del fenotipo SS es:

$$\downarrow(SS) = [C^P Q + q(1 - C^P)] [C^M Q + q(1 - C^M)] \quad (1)$$

$$= [C^P (Q \cdot q) + q] [C^M (Q \cdot q) + q]$$

con  $C^P = C$  (paternal) y  $C^M = C$  (maternal). La relación entre  $\downarrow(SS)$ ,  $C^P$  y  $C^M$  se ve en la figura No. 1.

La incidencia  $\downarrow(AS)$  del fenotipo AS es

$$\downarrow(AS) = [C^P Q + q(1 - C^P)] [C^M (1 - Q) + (1 - C^M)(1 - q)]$$

$$+ [C^M Q + q(1 - C^M)] [C^P (1 - Q) + (1 - C^P)(1 - q)] = [C^P (Q - q) + q] [C^M (q - Q) + 1 - q] + [C^M (Q - q) + q] [C^P (q - Q) + 1 - q] \quad (2)$$

La relación entre  $\downarrow(AS)$ ,  $C^P$  y  $C^M$  es demostrada en la figura No. 2.

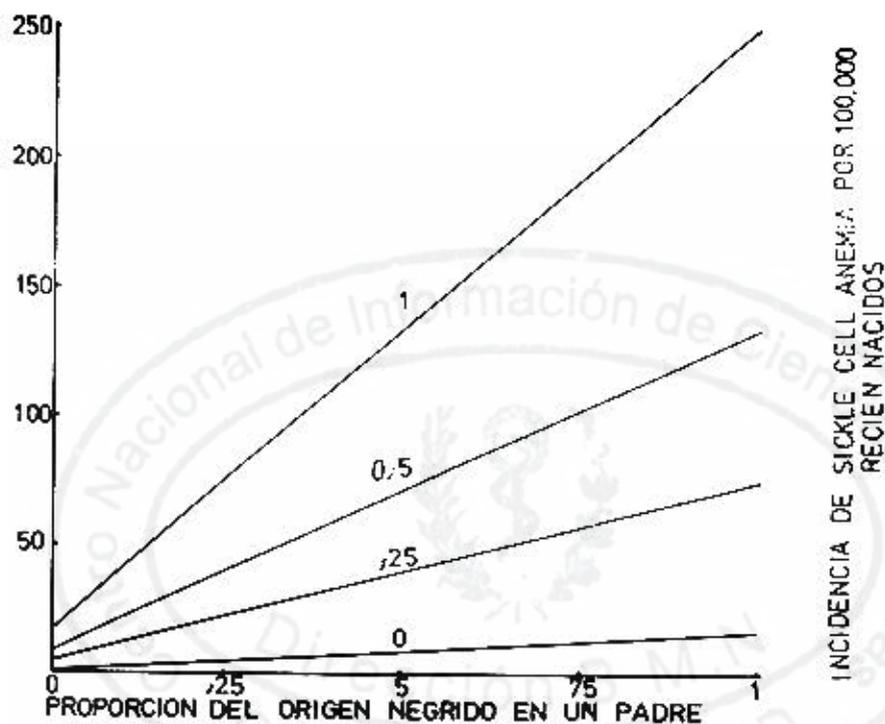


Fig. 1.—Incidencia de sickle cell anemia con relación a la proporción del genoma negroide en los padres. La proporción de un padre es variable (abscisa) y la del otro padre fijo, en una línea para  $C^p(m) = 0; 0,25; 0,5; 1,0$ . El esquema está hecho en base de la igualdad (1) para  $Q = 0,05$  y  $q = 0,0033$  según la proposición de Wright y Morton (Wright SW, Morton NE: Genetic studies on cystic fibrosis in Hawaii, *Am J. Hum Genet* 20: 157, 1968).

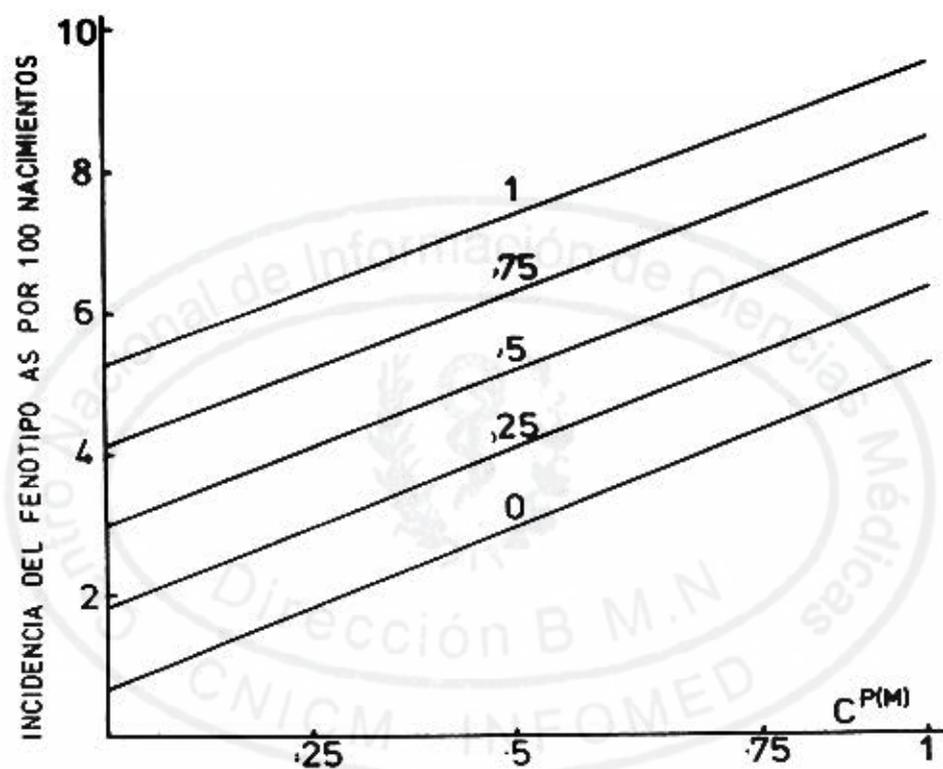


Fig. 2.—Incidencia del fenotipo AS en relación a la proporción del genoma negroide en los padres. El esquema está hecho según la igualdad No. 2. (Otras explicaciones: ver figura No. 1).

Poniendo  $q = 0$ , las igualdades (1) y (2) se convierten en:

$$i(SS) = C^p C^m Q^2 \quad (1 \text{ a})$$

$$i(AS) = Q (C^p + C^m) - 2 C^p C^m Q^2 \quad (2 \text{ a})$$

Se ve que  $i(SS)$  depende del producto de  $C^p$  y  $C^m$ , mientras que  $i(AS)$  mayormente depende de  $C^p + C^m (x)$ .

Para  $q = 0$  y  $C^p = C^m = C$

$$i(SS) = C^2 Q^2 \quad (1 \text{ b})$$

$$\text{y } i(AS) = 2 C Q - 2 C^2 Q^2 \quad (2 \text{ b})$$

El número total  $n_i$  de individuos con la proporción negroide  $C_i$  en el genoma depende de la proporción  $C_0$  del genoma negroide en la población total y el número  $N_0$  de individuos en la misma:

$$\sum_{i=1}^K n_i C_i = n C - C_0 N_0 \text{ con } 1 \geq C \geq C_0 \quad (3)$$

$$n = \frac{C_0 N_0}{C}$$

El número total  $N(SS)$  de individuos del fenotipo SS es

$$\begin{aligned} N(SS) &= n i(SS) \\ &= \frac{C_0 N_0 C^2 Q^2}{C} \\ &= C_0 N_0 C Q^2 \end{aligned} \quad (4)$$

(x) En un grupo de padres con

$$C_1^p + C_1^m = C_1^p + C_1^m = C_n^p + C_n^m = K$$

la incidencia  $i(SS)$  en la próxima generación es:

$$\begin{aligned} i(SS) &= C_1^p C_1^m Q^2 \text{ con } C_1^m = K - C_1^p \\ &= C_1^p (K - C_1^p) Q^2 \end{aligned}$$

$i$  variable entre:

$$\begin{aligned} i(SS) &= 0 \text{ para } C_1^p \text{ o } C_1^m = 0 \text{ y } i(SS) = (C_1^p)^2 Q^2 \\ &= (C_1^m)^2 Q^2 = \text{ para } C_1^p = C_1^m \end{aligned}$$

La relación entre  $N(SS)$  y  $C$  se ve en la figura No. 3. El número total  $N(AS)$  de individuos del fenotipo AS es

$$\begin{aligned} N(AS) &= n i(AS) \\ &= \frac{C_0 N_0}{C} (2 C Q - 2 C^2 Q^2) \\ &= 2 C_0 N_0 Q - 2 C_0 N_0 C Q^2. \end{aligned} \quad (5)$$

La relación entre  $N(AS)$  y  $C$  se ve en la figura 4. Como que  $C_0 N_0 C Q^2$  es pequeño comparado con  $C_0 N_0 Q$  se puede hacer un cálculo sobre  $C_0$  utilizando la igualdad:

$$C_0 \frac{N(AS)}{2 N_0 Q}$$

Poniendo  $Q = 0,05$  según los datos sobre la incidencia del fenotipo AS en negros puros de América Central y la incidencia del fenotipo AS en la población de Cuba  $(AS)/N_0 = 0,03$  según los datos presentados en este taller la proporción  $C_0$  aproximadamente es:

$$C_0 \sim \frac{0,03}{2 \times 0,05} = 0,3$$

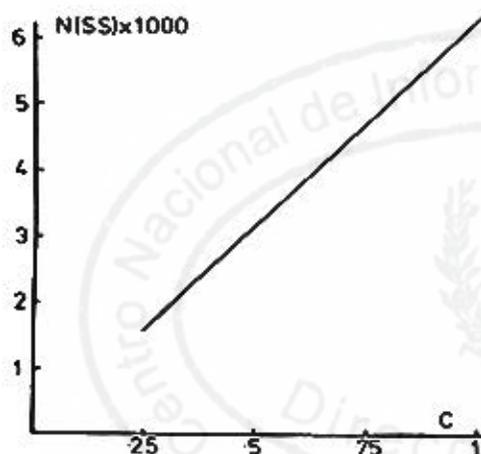


Fig. 3.—Número total  $N(SS)$  de enfermos de Sickle cell anemia en la población en función de  $C$  según igualdad (4) para  $C_0 = 0,3$ ;  $N_0 = 8,5$  millones y  $Q = 0,05$ .

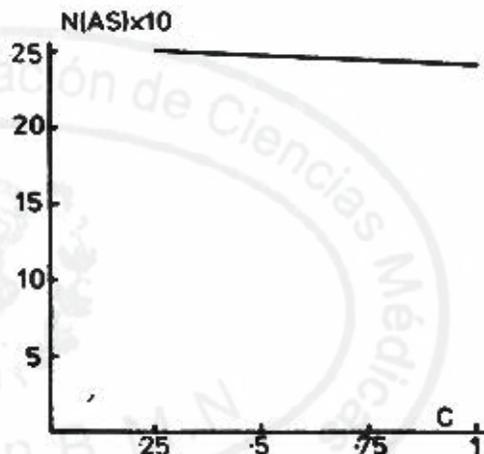


Fig. 4.—Número total  $N(AS)$  de portadores (fenotipo AS) en la población, en función de  $C$  según la igualdad (5) para  $C_0 = 0,3$ ;  $N_0 = 8,5$  millones y  $Q = 0,05$ .

Según las igualdades (4) y (5) el número total  $N(SS)$  de enfermos en la población es directamente proporcional a  $C$  o a la pureza de la población negra y el número total  $N(AS)$  de portadores en casi independiente de  $C$ . Poniendo  $N_0 = 8\,500\,000$ ,  $C_0 = 0,3$ ,  $Q = 0,05$ ,  $N(SS)$  es variable entre 1 594 y 5 312 para  $C$  entre 0,3 y 1 (ver figura No. 3).

Poniendo  $N_0 = 250\,000$ , que es el número de recién nacidos por año en Cuba,

el número de recién nacidos por año con sickle cell anemia  $N(SS)$  es variable entre 47 y 156 para  $C$  entre 0,3 y 1. Como que la población cubana es parcialmente mezclada,  $C$  es mayor que  $C_0 = 0,3$  y menor que 1, lo que implica que el número total de recién nacidos con sickle cell anemia es mayor que 47 y menor que 156.

Como que la incidencia de enfermos en familias con alto riesgo es 0,25, el número total de recién nacidos de estas familias es

mayor que 188 y menor que 624 por año. es decir, conocidas las familias con alto riesgo, hay que hacer de 0,5 a 2 diagnósticos prenatales como promedio diariamente.

De los 188 a 624 fetos por año que serían objeto de diagnósticos prenatales, el 75% de ellos, o sea, de 141 a 468 fetos tendrían el fenotipo de hemoglobina AS o AA (clínicamente sanos). El empleo por parte del médico del diagnóstico prenatal para reducir el problema social en las familias con alto riesgo implica además el riesgo de la punción intrauterina para la madre y para el ulterior desarrollo fetal el cual no debe ser mayor de 0,25 que es el mínimo del riesgo adicional por cada nacimiento en estas familias.

Cuando el primer feto analizado presenta el fenotipo hemoglobínico SS hay que tener en cuenta además el riesgo de una segunda punción intrauterina, junto a la interrupción del embarazo fuera del tercer mes de gestación.

Mientras existen datos sobre el riesgo de la punción intrauterina y el aborto arti-

ficial, no sucede lo mismo sobre el riesgo del desarrollo fetal siguiente a la intervención que presupone dicho método. Una forma para reducir el riesgo fetal consiste en el desarrollo de nuevas técnicas para la localización precisa de los fetos y placentas y lograr de ese modo puncionar el lugar apropiado para la toma de la muestra. Actualmente se realiza la localización placentaria mediante microinstrumentos ópticos que se introducen a través del cuello del útero; sin embargo, todavía no existen resultados satisfactorios que permitan comenzar con su aplicación porque todavía el riesgo de inducir un aborto es demasiado elevado.<sup>3</sup>

En resumen, podemos decir que lo que falta por resolver para reducir la carga social de las familias con alto riesgo, está en manos de los ginecólogos; quizás experimentos en primates aporten una ayuda para obtener los datos que permitan comenzar rápidamente con la prevención de esta alta carga genética en el hombre.

#### SUMMARY

Altland, K., et al. *Prenatal diagnosis of sickle-cell anemia*. Rev. Cub. Ped. 46: 3, 1974.

An analysis on the necessity and possible use of prenatal diagnosis for avoiding the birth of sicklemic children is presented. Difficulties in the application of this method and risks of placental puncture for the future embryonal development are also showed. An estimate on possible births per year in Cuba of homozygotic children with Hb S (Hb SS phenotype) is presented.

#### RESUME

Altland, K. et al. *Diagnostic prénatal de l'anémie à hématies falciformes*. Rev. Cub. Ped. 46: 3, 1974.

Afin d'éviter la naissance d'enfants sicklémiqes on fait appel au possible emploi du diagnostic prénatal. Ils sont exposés aussi les difficultés de la méthode et du risque qu'implique une ponction placentaire pour le développement futur de l'embryon. Les possibles naissances d'enfants homozygotiques pour l'Hb S (phénotype de Hb S) annuel à Cuba sont calculées.

## РЕЗЮМЕ

Алтленд К., и др. Предродовой диагноз серповидноклеточной гемолитической анемии. *Rev. Cub. Ped.* 46: 3, 1974.

Отмечается необходимость и возможность применения предродового диагноза в целях избежания рождения детей, болевших серповидноклеточной гемолитической анемией. Отмечаются затруднения, связанные с использованием этого метода, а также риск, который представляет плацентарная пункция для будущего развития зародыша. Приводится расчет вероятных рождений детей гомозиготных для нб S (фенотип нб SS) каждый год на Кубе.

## BIBLIOGRAFIA

- 1.—Clegg J. B., et al. Abnormal Human Hemoglobins: Separation and characterization of the alpha and beta Chains by Chromatography, and Determination of Two New Variants. Hb Chesapeake and Hb J (Bankok). *J. Mol. Biol.* 19: 91, 1968.
- 2.—Jensen, M. Comunicación personal, 1972.
- 3.—Kan, Y. W., et al. Detection of the Sickle Gene in Human Fetus. *New Engl. J. Med.* 287: 1, 1972.

Recibido el trabajo: Enero 17, 1974

