Anemia falciforme:

Un cambio de paradigma en patofisiología de esta enfermedad

Iryna Rusanova'

Abstract

 Tradicionalmente, la patofisiología de anemia falciforme se explica a través de la polimerización de la hemoglobina falciforme (HbS), que aumenta en condiciones de hipoxia, provocando la oclusión de los vasos sanguíneos pequeños. Pero este paradigma cambia a partir de los finales de los años noventa, cuando varios grupos de científicos a nivel mundial confirman que además del cambio estructural de la hemoglobina, esta enfermedad genética en su gran parte se explica por el proceso de disfunción endotelial que se desarrolla debido al aumento del estrés oxidativo, falta de biodisponibilidad de óxido nítrico, aumento de procesos inflamatorios y de adhesión celular a las paredes de vasos sanguíneos; además de las variantes genéticas dentro de los grupos de varios genes, corno por ejemplo cluster globínico beta. La hemoglobina liberada de los eritrocitos afectados contribuye al consumo de un importante vasodilatador, óxido nítrico, aumenta la producción de radicales libres de oxígeno y de nitrógeno, y finalmente, se produce una serie de complicaciones clínicas que disminuyen las expectativas de vida de los pacientes con anemia falciforme. Las contribuciones al entendimiento de esta enfermedad permitirán buscar unas nuevas terapias dirigidas a combatir el estrés oxidativo, la hemolisis y la destrucción de óxido nítrico para beneficiar la calidad de vida de los pacientes.

Introducción

 La primera observación de los eritrocitos falciformes se realizó en 1910 por James Herrick en un frotis de sangre periférica de un estudiante negro originario de la Grenada, que murió a los 32 años a causa de neumonía. En 1949 Pauling y sus colegas informaron sobre la existencia de la Hb anormal S (HbS) y se introdujeron el concepto de enfermedad molecular. Pauling en su artículo "Sickle-cell Anemia, a Molecular Disease" publicado in Science (1949), demostró que la hemoglobina de los pacientes con anemia falciforme tiene la carga eléctrica diferente a la de las moléculas de personas sanas. Afirmó que la enfermedad puede ser provocada por alteración en una molécula, y que es hereditaria, por ende, los genes determinan la estructura de la hemoglobina proteica. Esto tuvo tanta importancia, que dio inicio a la época de la medicina molecular y en 1954 Pauling fue galardonado con el Premio Nobel de Química.

Poco después, en el año 1959, Vernon M. Ingram demostró que la hemoglobina S es el resultado de una mutación en el codón 6 del gen de la globina beta en la que la base timina es sustituida por la adenina (GTG ® GAG) lo que ocasiona que el ácido glutámico en la posición 6 de la globina sea sustituido por la valina. Como esta sustitución se lleva a cabo en una posición superficial de la molécula de hemoglobina y la carga eléctrica es diferente, la movilidad electroforética de la HbS es menor que la de la hemoglobina normal, pudiéndose ser fácilmente separada por electroforesis.

 La anemia falciforme y la beta-talasemia son las dos de las más frecuentes enfermedades genéticas del mundo. Según los datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) se estima, que unos 5% de la población mundial portan genes de las hemoglobinopatías, y el 50% de estas hemoglobinopatias viene dado por la anemia falciforme o drepanocitosis. Cada año nacen alrededor de 370,000 niños con talasemia y anemia falciforme, de los cuales más de 200 000 son africanos.

 También en Europa y Asia se presenta en países de la cuenca mediterránea, como Turquía, Grecia, Italia, España y Oriente Medio, así como en los países árabes e India Oriental. En América se da en los Estados Unidos (en personas de origen africano o afroamericano) y en el Caribe, América Central y del Sur (Brasil).

 El gen de anemia falciforme se ha hecho frecuente en África porque el rasgo heterocigota confiere cierta resistencia al paludismo provocado por parásito Plasmodium falciparum durante la infancia, favoreciendo así la supervivencia del huésped y la consiguiente transmisión del gen de la hemoglobina anormal. Aunque la presencia de un único gen anormal puede proteger del paludismo, la herencia de dos genes anormales produce anemia falciforme.

 Esta enfermedad tiene importantes repercusiones en la salud pública. Cuando el impacto en la salud se mide en función de la mortalidad de los menores de cinco años, la anemia falciforme es la causa de la muerte de un 5% de este segmento de la población en el continente africano, de más de un 9% en África occidental y de hasta un 16% en algunos países de esta subregión. Por ejemplo, en Nigeria, que es sin duda el país más poblado de la subregión, el 24% de la población es portadora del gen mutante, y la prevalencia de la anemia falciforme es de aproximadamente 20 casos por 1000 nacidos. Esto significa que sólo en Nigeria nacen anualmente unos 150 000 niños con esta hemoglobinopatía.

 La detección masiva de anemia falciforme en Estados Unidos inició en el año 1975, yeso permitió diagnosticarla desde los primeros meses de nacimiento. Un seguimiento en la evaluación de estos niños y la administración temprana de penicilina redujo notablemente la morbilidad y la mortalidad en los niños diagnosticados. La supervivencia mediana estimada en los Estados Unidos de América en 1994 era de 42 años para los hombres y 48 años para las mujeres, mientras que en Jamaica, en 2001, era de 53 años para los hombres y 58,5 años para las mujeres.

 Anemia falciforme representa un importante problema para la salud pública. Solo en Estados Unidos entre los años 1989 y 1992 se reportó 75,000 hospitalizaciones por año. En 1996 estas hospitalizaciones sumaron $475 millones de dólares anuales.

 En Panamá y Costa Rica según los datos de la OPS existe un 8 por ciento de la población afectada por esta enfermedad. Sin embargo, no hay datos claros publicados sobre la prevalencia de esta enfermedad en la República de Panamá. Solamente a partir de ahora, luego de la aprobación del ley nacional de tamizaje neonatal, en el año 2007, se va a poder a realizar un diagnóstico masivo y determinar la prevalencia de anemia falciforme en distintas zonas de Panamá y en país en general.

Clínica

 Las manifestaciones clínicas de la anemia drepanocítica clásica han sido bien definidas desde hace mucho tiempo y se han caracterizado por un conjunto de signos y síntomas propios de una anemia hemolítica crónica grave, con incremento de la susceptibilidad a las infecciones, retraso del crecimiento y desarrollo, crisis de dolor por oclusión vascular, cuadro torácico agudo, síndrome de secuestro esplénico, daño tisular, trastornos del sistema nervioso central, crisis aplásicas y hemolíticas y asplenia funcional. La anemia falciforme tiene un amplio espectro clínico y la gravedad de los síntomas puede variar mucho de un paciente a otro. La mayoría de los afectados tienen anemia crónica con una hemoglobinemia (concentraciones de Hb en la sangre) de alrededor de 8 g/dI.

Patofisiología de anemia falciforme

 Anemia falciforme es la primera enfermedad congénita en la cuál fue identificado el error genético específico. Pero, a pesar del mismo error genético, los pacientes presentan una serie de síntomas y síndromes muy variados. Aunque la gran parte de patofisiología de esta enfermedad es explicada por la polimerización de la hemoglobina falciforme dentro de los eritrocitos, existen otros factores implicados que cambian el paradigma de patofisiología de esta enfermedad. Los estudios en distintas poblaciones y durante las últimas décadas indican que la fisiopatología involucra factores genéticos (polimorfismos de distintos genes), y otros factores relacionados con la disfunción endotelial.

 La disfunción endotelial se define corno el estado patológico caracterizado por el desequilibrio entre la producción de factores vasodilatadores y vaso constrictores, entre las propiedades procoagulantes y anticoagulantes y por alteración de la permeabilidad vascular. La vasooclusión, responsable de las crisis de dolor y daños multiorgánicos, se relaciona con la inflamación, un aumentado estrés oxidativo y la disfunción endotelial.

 Todos los participan tes moleculares están relacionados: por un lado, disminuyen las defensas antioxidantes, y por otro lado, aumenta la formación de las especies reactivas de oxígeno. Además, se producen cambios en la disponibilidad de sustratos y cofactores para la enzima óxido nítrico sintasa, que conlleva a la disminución de biodisponibilidad de óxido nítrico (NO) y el aumento en la formación de especies reactivas de nitrógeno.

 Otros estudios también indican que aumenta la respuesta inflamatoria microvascular, del mismo modo que durante la ateroesclerosis e hipertensión. Como el resultado de todos estos eventos, se produce un desequilibrio en el funcionamiento de las células endoteliales que conlleva al aumento de vasoconstricción y adhesión celular.

Polimorfismos de genes del cluster globínico beta

 Los aspectos genéticos más estudiados son los cambios de un solo nucleótido o SNPs en el bloque o cluster de genes beta, denominados haplotipos del cluster beta. Este cluster se localiza en cromosoma 11 (lIpI5.5) Y contiene alrededor de 45 kb, incluyendo cinco genes funcionales y un pseudogen. El orden de ubicación de los genes es: 5' -epsilon, gamma G, gamma A, beta 1 pseudogene, delta, beta -3'. Todos estos genes tienen una estructura similar (dos exones y tres intrones) que lleva a concluir que se derivan un solo gen ancestral. Los genes de las globinas son regulados durante el desarrollo y se expresan en los momentos específicos de la vida humana.

 El cluster beta se divide en cluster 5' y 3'. Un haplotipo responde a un patrón de secuencias polimórficas que son estudiadas por medio de enzimas de restricción. La combinación o patrón aleatorio de los sitios de restricción polimórficos en un cromosoma es lo que define el haplotipo de un gen.

 La introducción de técnicas de Biología Molecular, entre ellas, el uso de enzimas de restricción obtenidas de bacteriófagos específicos, dio un nuevo impulso para el estudio de la HbS al encontrar que existen distintos patrones de digestión o restricción dentro del cluster beta y que además, se relaciona con sus orígenes geográficos. Desde la primera descripción de estos fragmentos por Kan y Dozy se ha demostrado que al menos hay 5 tipos de HbS: SS-Benin, SS-Bantú (CAR, República Central Africana), SS-Senegal, SS-Camerún, SS-Árabe¬Indio, y todos estos tipos de drepanocitosis se caracterizan por la misma mutación, pero diferente extensión en los cambios moleculares ocurridos a lo largo del cluster b. Otros autores reportan seis haplotipos, separando el haplotipo Árabe-Indio en Arabé-saudi y Asiático-indio.

 La importancia de conocer los haplotipos radica en que los de tipo Bantu y Benin acusan una gravedad mayor que los de tipo Senegal, árabe saudí y asiático-indio, en los cuales los pacientes pueden presentar síntomas diversos desde el segundo mes de edad, razón por la que requieren mayor y mejor atención médica continua, Por ejemplo, se ha visto que los neonatos con haplotipo Bantu (CAR) en su estado homocigoto tienen un mayor riesgo para desarrollar accidentes cerebrovasculares.



 Aunque también se reportan estudios donde no se encuentra la correlación entre la gravedad clínica de la enfermedad y los haplotipos.

Las variaciones en la expresión de la hemoglobina fetal

 La hemoglobina fetal tiene dos cadenas alfa y dos cadenas gamma Gg y tiene mayor afinidad por el oxígeno, además inhibe la polimerización de HbS, permitiendo llevar las cantidades suficientes de oxígeno a los tejidos periféricos, La concentración de HbF al nacimiento es de 80% y disminuye al cumplir 6 meses.

 Se ha reportado que existen varios factores que influyen en las variaciones de HbF en los pacientes falcémicos, entre éstos se destacan: edad, sexo, cantidad de las globinas alfa, haplotipos beta y locus ligado al cromosoma X, que regula la producción de eritrocitos F (FCP), Cada una de estas variables presenta asociación con los niveles F, pero la participación de FCP es de mayor prevalencia (40%).

 Los pacientes con anemia falciforme presentan distintos niveles de HbF, y se ha observado, que los niveles elevados de hemoglobina fetal (HbF) y los haplotipos Senegal y Arabia / India se asocian con el cuadro clínico menos grave (16). Los altos niveles de HbF a su vez se relacionan con el polimorfismo en la región promotora del gen Gg (-158 (C®T» que regula la expresión de HbF. También, Nagel et al demostraron que la presencia de por lo menos un cromosoma con haplotipo Senegal, a diferencia de otros haplotipos africanos, se asocia con altos niveles de HbF y mejoras en el curso de anemia falciforme.

 Sin embargo, hay otros estudios que sugieren que los niveles de hemoglobina fetal son importantes, pero no son los únicos parámetros que afectan la gravedad de la enfermedad.

 Además, se encontraron altos niveles de HbF en pacientes con haplotipos CAR en el Líbano y no parecen mejorar la severidad de síntomas, lo que sugiere que otros factores genéticos y no los niveles de HbF son principales factores determinantes de la gravedad de la enfermedad (14).

Niveles del estrés oxidativo asociados a la hemólisis

 Se conoce perfectamente que los glóbulos rojos de los pacientes anémicos tienen una membrana mucho más frágil y son mucho más vulnerables a producir hemólisis. La hemolisis representa un aumento en la destrucción prematura de los eritrocitos.

 Si antes se pensaba que la hemolisis se debe a que las células contienen la HbS polimerizada y adherida a la membrana que la hace ser más rígida, ahora cada vez más surgen los estudios que demuestran que estos eritrocitos se encuentran en condiciones del estrés oxidativo aumentado y sistemas antioxidantes disminuidas, que conlleva a la producción de daños de varias moléculas, incluyendo a las de la membrana celular.

 Uno de los factores implicados en la heterogeneidad de las complicaciones de esta enfermedad es el nivel de la hemólisis. Altos niveles de hemolisis se asocian con una de las mayores complicaciones que es la hipertensión pulmonar. Se puede estimar la hemolisis a través del índice de reticulocitos. La otra forma de medir la hemolisis es a través de lactato deshidrogenasa (LDH), arginasa 1 y ratio argininal ornitina, en el plasma. Las evidencias recientes demuestran que los pacientes con las complicaciones agudas, tales como hipertensión pulmonar y asistémica, priapismo, ulceraciones cutáneas y riesgo de muerte repentina en los niños, se caracterizan por altos niveles de hemolisis, una vasculopatía proliferativa y disfunción en el sistema vasomotor.

 A cambio, los pacientes con las manifestaciones clínicas clásicas de la enfermedad, que incluyen crisis de dolor y síndrome torácico agudo, están más asociados con la patogénesis que involucra vaso obstrucción, infartos e inflamación.

La patogénesis de la hemolisis incluye la producción de los radicales libres de oxígeno (ROS), disminución en la efectividad del sistema antioxidante, peroxidación de los lípidos y proteínas de las membranas eritrocitarias y posterior salida del contenido hacia el espacio extracelular, El nivel de la hemolisis a su vez provoca pérdidas de NO, necesario para la producción de cGMP, activación de óxido nítrico sintasa inducible (iNOS), VEGF (vascular endotelial growth factor), que a su vez potencia la vasoconstricción y la producción de la hipertensión arterial. Por ende, la hipótesis de estudiar la expresión del estrés oxidativo como un biomarcador del estado y avance de anemia falciforme y su posible relación con los haplotipos, tiene una significancia clínica, Además, ROS pueden desactivar directamente a la proteína NOS endotelial, responsable de producir NO, un importante vasodilatador.

 En los estudios con eritrocitos procedentes de donantes voluntarios y de enfermos se ha encontrado que, en los segundos, la generación de ROS es aproximadamente 2 veces mayor para el anión superóxido (02-·), el hidroxilo (OH) y la peroxidación lipídica, Igualmente se encontró una disminución en la producción o liberación de óxido nítrico (NO) durante las crisis vaso oclusiva.

Consecuencias del estrés oxidativo en anemia falciforme

1. HEMOLISIS

 La membrana es uno de los organelos que más se afecta en condiciones de sobreproducción de ROS, se produce la lipoperoxidación, la membrana se hace más rígida e inestable a cualquier toque mecánico. La participación directa de los componentes oxidantes en este proceso es demostrada administrando metosulfato de fenazina, a medida que se aumenta la dosis de administración, se eleva el daño membranal (aumenta la rigidez y disminuye la elasticidad de las células rojas).

2. ADHESIÓN DE LAS CÉLULAS ROJAS

 En los estudios de cultivos de células endoteliales de venas del cordón umbilical humano de los pacientes con seo, se ha observado una aumentada concentración de ácido tiobarbiturico, activación de NF-kB y elevada expresión de las moléculas de adhesión celular, La adhesión se disminuye luego de tratar las células con SOO, catalasa y antioxidante probucol.

3. ADHESIÓN DE LAS CÉLULAS PLAQUETARIAS y LOS LEUCOCITOS

 La adhesión plaquetaria en microcirculación de los ratones seo es de 4 a 5 veces mayor que en los ratones normales, y que probablemente, se relaciona con el aumento en la expresión de P-selectina, en condiciones del estrés oxidativo, que a su vez motiva el reclutamiento de las plaquetas y los leucocitos.

 Además, se ha demostrado que en los ratones con deficiencia genética de NAOPH oxidasa (gp92phox) y sobre expresión de SOD citosólica (SOD1), la adhesión de los leucocitos disminuye.



Estrategias de tratamiento

HIDROXIUREA

 Hidroxiurea es una droga citotóxica y citostática que FD A ha aprobado como tratamiento preventivo de anemia falciforme. Varios estudios indican que su uso reduce la frecuencia de las crisis vasooclusivos, complicaciones pulmonares, disminuye la necesidad de las transfusiones y reduce la mortalidad en los pacientes anémicos. Otra ventaja es su bajo coste que permite utilizarla de una manera bastante generalizada. Pero no todos los pacientes responden al tratamiento con hidroxiurea, además su uso prolongado puede incrementar el riesgo de defectos hereditarios y leucemia.

 El mecanismo de acción de hidroxiurea no está muy claro, por un

lado se ha demostrado que ésta induce la síntesis de la HbF, que tiene un

efecto beneficioso en el proceso de oxigenación de los tejidos. Pero por

otro lado, también se sugiere que hidroxiurea es un agente que reduce la

actividad de mieloperoxidasa, libera NO, estabiliza la óxido nítrico sintasa endotelial (eNOS).

 Capacidad de hidroxiurea de aumentar la liberación de NO, confirman estudios donde se demuestra que es capaz de reaccionar con oxihemoglobina, deoxyhemoglobina y metahemoglobina para liberar NO in vitro e in vivo. Pero muchos pacientes no responden al tratamiento con este medicamento.

TRANSFUSIONES CRÓNICAS

 Las transfusiones de sangre mejoran notablemente el estado de un paciente crítico, siendo una terapia alternativa que evita daños mayores a los órganos vitales. Sin embargo, siempre queda algún porcentaje de células falciformes en el organismo, y el proceso patológico continúe, por ejemplo, los niveles elevados de Hb plasmática y de recuento de reticulocitos disminuye, pero no se normaliza completamente.

 Además, el acceso a las transfusiones de sangre está limitado y mucho menos en los países africanos. Las transfusiones frecuentes conllevan a que se desarrolle riesgo de alloinmunización eritrocitaria, sobrecarga de hierro e infecciones.

TRASPLANTE DE CÉLULAS MADRE

HEMATOPOYÉTICAS

 Es un tipo de tratamiento curativo pero es difícil conseguir donante que sea HLA compatible y que no tenga rasgo falciforme, el trasplante es más efectivo en los niños que en los adultos, es difícil predecir el curso que va a tomar el paciente luego de la operación, y las complicaciones aún son bastante frecuentes.

Si se evalúan esos tres tratamientos tradicionales, se puede decir que son menos que satisfactorios, que se requieren nuevas opciones que disminuyen ratio riesgo beneficio.

 En Francia, actualmente se exploran primeros ensayos para la terapia génica, que sí podría ser un tratamiento definitivo, pero aún no está claro si el gen correctivo puede tener una expresión efectiva y a largo plazo, si es un procedimiento seguro y cuál es el perfil de su coste.

TERAPIAS ALTERNATIVAS

 El uso de algunas de estas estrategias terapéuticas, tales como donantes de NO y los nitritos, en pacientes con SCD pueden tener limitaciones importantes. Por ejemplo, las terapias que aumentan la biodisponibilidad de NO (suplemento de L-arginina, la inhibición de la arginasa, NO donantes) en un entorno de aumento de estrés oxidativo puede empeorar los resultados de combinando el estrés oxidativo con lesión nitrosativa a través de especies nitrosativas muy reactivas (ONOO-).

 Del mismo modo, las estrategias que restablezcan funcionamiento de eNOS a través de la disponibilidad del cofactor sólo alimentan oxidación si xantina oxidasa, NADPH oxidasa o autooxidación de HBS son principales contribuyentes al medio oxidativo.

Así que una estrategia combinada que tome en cuenta desacoplamiento eNOS, la inhibición de la arginasa, la compactación de la hemoglobina libre o su inactivación, eliminación de ROS y donadores de NO, puede ser requerida.

Conclusiones

 En este artículo hemos dado una concepción general de un nuevo enfoque en el estudio de anemia falciforme, enfermedad que afecta una gran parte de la población latino americana. La comprensión de que esta enfermedad causada por un error genético puntual, tiene un carácter multifactorial, explica el hecho que los pacientes tienen una amplia variedad clínica, además permitirá encontrar nuevos tratamientos.

 Se requieren nuevas terapias basadas en biología de radicales libres, dirigir las estrategias terapéuticas que involucran áreas no tradicionales en anemia falciforme, tales como estudio de función mitocondrial, inflamación, disfunción endotelial, fisiología de nitritos y toda el área de enfermedades cardiovasculares. Por otra parte, el énfasis tradicional del fenómeno de la formación de eritrocitos falciformes y oclusión de vasos sanguíneos en la SCD debe ser equilibrado con una apreciación de que esta hemoglobinopatia se manifiesta en gran medida como una vasculopatía.

 Actualmente nuestro grupo está realizando estudio de haplotipos del cluster beta por primera vez en un grupo de pacientes pediátricos panameños.

Agradecimientos

 Parte de este estudio es financiado por el grant de SENACYT FID024-07. Agradezco a la dra. Gladys Cossio del Hospital del Niño de Panamá, iniciadora de los estudios clínicos en el área de biomedicina en Panamá.