

## CASO CLÍNICO: Biología Molecular Hemoglobinopatías.

### A. PRESENTACIÓN DEL CASO

#### Caso clínico:

Niño de 6 años de edad, de madre y padre españoles, que en consulta de cardiología infantil por soplo inocente se le detecta aumento de bazo, por lo que se le indica realizar analítica.

#### Antecedentes personales:

Nacido a término PRN 3,450 Kg. Lactancia artificial, inmunizaciones según calendario incluida antineumocócica. No alergias. Desde los 2 años observa orina colúrica intermitente, palidez desde siempre.

#### Antecedentes familiares:

Madre 37 años, sana. Sin antecedentes de interés.

Padre 37 años, sano. Sin antecedentes de interés.

Una hermana de 12 años, sana. Sin antecedentes de interés.

Un hermano de 9 años, sano. Sin antecedentes de interés.

#### Resultados analítica:

Se le realiza analítica con un resultado de Hb: 7,8 g/dL, VCM 76fL, HCM: 18 pg Reticulocitos 4,20 % Ferritina: 224 ng/mL, Bili total: 2,21 mg/dL, LDH 736 U/L, Haptoglobina <7,4 mg/dL.

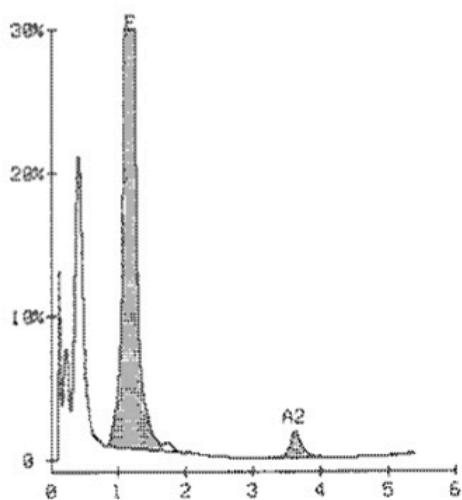
Por lo que se solicita estudio de talasemia al caso, madre, padre y hermanos incluyendo a) hemograma y b) separación y cuantificación de hemoglobinas

Resultados Hemograma y HPLC – Variant I – Programa Beta talasemia							
	Hb - g/L	RBC - $10^{12}/L$	MCV - fl	MCH - pg	Retics %	HbF %	HbA2 %
Rango Normal Adultos	120-170	3,8-5,5	83-101	27-32	<2%	<2,0%	2,6-3,4
Rango Normal 6-12 años	115-155	4,0-5,2	79-95	25-33	<2%	<2,0%	2,6-3,4
Caso	78	4,7	76	18	4,2	98	2,1
Madre	120	5,23	83,9	22,9	1,11	4,4	5,6
Padre	143	6,63	79,5	21,6	0,57	9,7	3
Hermana	125	4,32	81	28	0,48	1,1	2,8
Hermano	130	5,6	76	20,2	0,52	8,7	2,9

**HPLC – Variant I – Programa Beta talasemia: Caso (A), madre (B) y padre (C)**

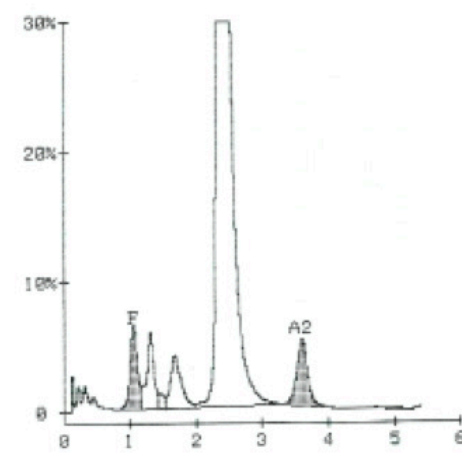
**A**

ANALYTE ID	%	TIME	AREA
F	96.4	1.18	1714262
P3	0.7	1.71	10929
A2	2.8	3.62	35268
TOTAL AREA			1760459
F	96.4%	A2	2.8%



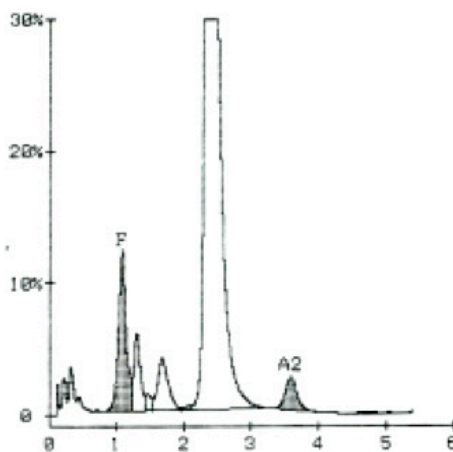
**B**

ANALYTE ID	%	TIME	AREA
F	4.4	1.05	85344
P2	4.1	1.30	81538
Unknown 1	8.6	1.46	12421
P3	4.2	1.67	93809
Ao	82.0	2.30	1618827
A2	5.6	3.60	105044
TOTAL AREA			1986183
F	4.4%	A2	5.6%



**C**

ANALYTE ID	%	TIME	AREA
F	9.7	1.08	233423
P2	3.7	1.30	91817
Unknown 1	0.7	1.46	18006
P3	4.3	1.68	105738
Ao	79.6	2.36	1965419
A2	3.0	3.58	69864
TOTAL AREA			2484267
F	9.7%	A2	3.0%



Debido a la ausencia de HbA en el caso, se orienta como beta talasemia mayor y se procede a realizar la caracterización genética del gen responsable de beta-globina HBB mediante secuenciación SANGER de región promotora, exónes y regiones intrónicas flanqueantes.

#### Resultados secuenciación SANGER HBB

Caso: Homocigoto para la mutación HBB c.25\_26delAA

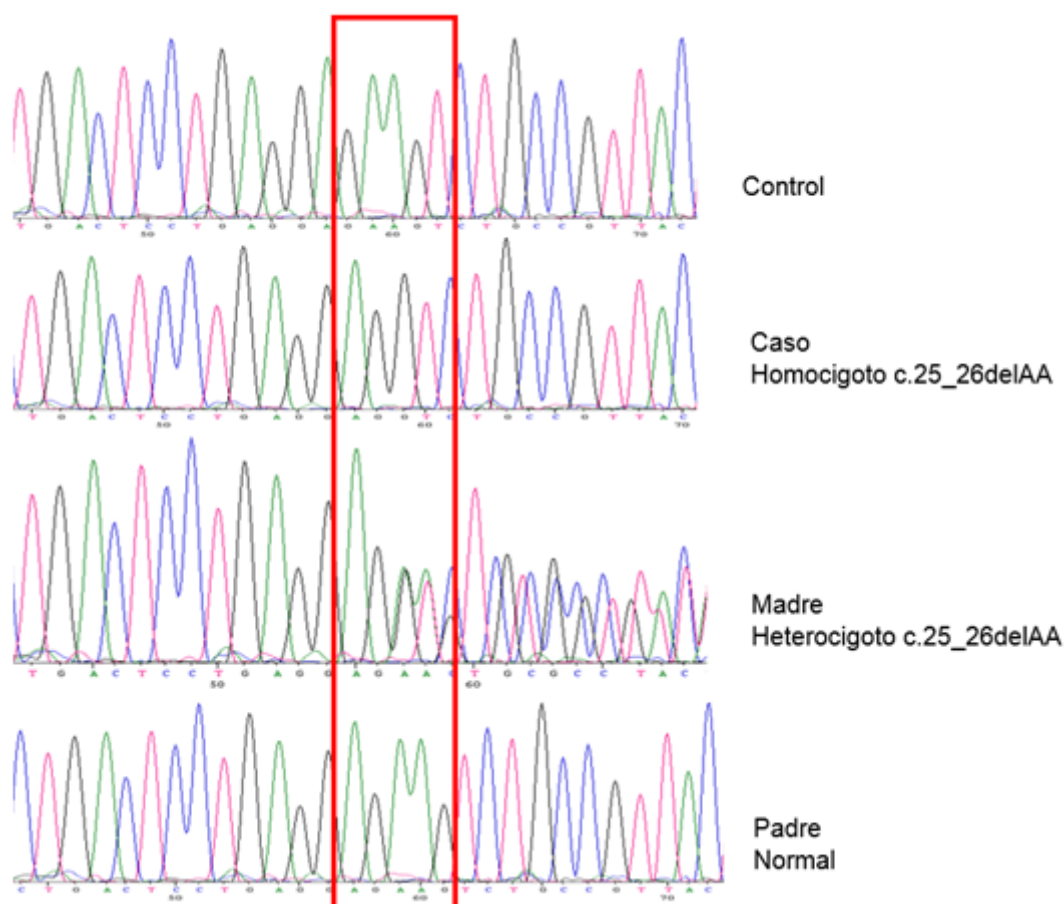
Madre: Heterocigota para la mutación HBB c.25\_26delAA

Padre: Normal

Hermana: Normal

Hermano: Normal

#### Imagen resultados SANGER Caso, madre y padre



La mutación HBB c.25\_26delAA [http://globin.bx.psu.edu/cgi-bin/hbvar/query\\_vars3?mode=output&display\\_format=page&i=785](http://globin.bx.psu.edu/cgi-bin/hbvar/query_vars3?mode=output&display_format=page&i=785) debida a la deleción de 2 nt en el codón 8 de la cadena de beta globina produce un cambio de pauta de lectura (8)Val-Cys-Arg-Tyr-Cys-Pro-Val-Gly-Gln-Gly- Glu-Arg-(20)Gly-COOH con introducción de un codón STOP prematuro en posición 21.

La consecuencia es por lo tanto una mutación tipo  $\beta^0$ -talasemia, ya que no se produce cadena  $\beta$ -globina. En estado homocigoto esta mutación es responsable de  $\beta$ -talasemia mayor.

**En base a los resultados obtenidos se diagnostica al niño como afecto de beta talasemia mayor como consecuencia del estado homocigoto de la mutación *HBB* c.25\_26delAA.**

**Sin embargo, 1) la manifestación clínica en el niño no correlaciona con una  $\beta$ -talasemia mayor y 2) si bien se confirma que esta mutación es heredada de la madre, no se identifica en el padre.**

## B. RESOLUCIÓN DEL CASO

Tras el estudio de talasemia al caso, madre, padre y hermanos incluyendo a) hemograma y b) separación y cuantificación de hemoglobinas, el caso se orienta como beta talasemia mayor y se procede a la caracterización genética del gen responsable de beta-globina *HBB* mediante secuenciación SANGER de región promotora, exones y regiones intrónicas flanqueantes.

Sin embargo, en la base genética de los síndromes beta-talasémicos, encontramos la asociación de alelos beta-talasémicos con alelos portadores de grandes deleciones que engloban los genes delta y beta globínicos, es lo que conocemos como delta-beta talasemia.

Existen varias mutaciones responsables de  $\delta\beta$  talasemia, siendo la más frecuente en España, la Spanish  $\delta\beta^0$  talasemia (NG\_000007.3:g.60375\_153285del92911)

[http://globin.bx.psu.edu/cgi-bin/hbvar/query\\_vars3?mode=output&display\\_format=page&i=1030](http://globin.bx.psu.edu/cgi-bin/hbvar/query_vars3?mode=output&display_format=page&i=1030)

La revisión de los datos del hemograma y de la separación de Hbs nos indican que el padre no es un portador de un rasgo  $\beta$  talasémico, ya que presentaría un incremento en la fracción de HbA<sub>2</sub>, sino de un rasgo  $\delta\beta^0$  talasémico, con incremento de la fracción de HbF pero HbA<sub>2</sub> normal, ya que la  $\delta\beta^0$  talasemia también elimina el gen  $\delta$ , impidiendo el incremento compensatorio de la fracción HbA<sub>2</sub> típico de la  $\beta$  talasemia.

Se analizó la presencia de la mutación Spanish  $\delta\beta^0$  talasemia en el caso, padre y hermanos, resultando:

Caso: Heterocigoto para la mutación Spanish  $\delta\beta^0$  talasemia

Padre: Heterocigoto para la mutación Spanish  $\delta\beta^0$  talasemia

Hermana: Normal

Hermano: Heterocigoto para la mutación Spanish  $\delta\beta^0$  talasemia

**Por lo que se realizó el diagnóstico en el caso de  $\beta$  talasemia intermedia con genotipo doble heterocigoto *HBB* c.25\_26delAA / Spanish  $\delta\beta^0$ .**

La  $\beta$  talasemia intermedia es una forma intermedia entre el rasgo talasémico, asintomático, y la talasemia mayor, con requerimiento transfusional crónico.

La  $\beta$  talasemia intermedia abarca un amplio espectro clínico. Los casos más graves se presentan entre los 2 y 6 años de edad con anemia, aumento del tamaño del bazo y, a veces, del hígado, así como un moderado retraso del crecimiento y del desarrollo. En otros casos, los pacientes son totalmente asintomáticos hasta la edad adulta con tan sólo una leve anemia. Es común la hiperplasia de la serie eritroide, con posibilidad de hematopoyesis extramedular, y deformaciones características de los huesos largos y de la cara, osteoporosis con fracturas patológicas y formación de masas eritropoyéticas afectando principalmente a bazo, hígado, ganglios linfáticos, tórax y columna vertebral. Cuando afecta a las vértebras, la hipertrofia eritroide puede causar trastornos neurológicos por compresión de la médula espinal y paraplejía. Estos pacientes pueden desarrollar también úlceras maleolares y litiasis biliar. En la  $\beta$  talasemia intermedia, se ha descrito un mayor aumento de la predisposición a la trombosis en comparación con la  $\beta$  talasemia mayor, especialmente tras la esplenectomía. Aunque los pacientes tienen riesgo de sobrecarga de hierro, el hipogonadismo, el hipotiroidismo y la diabetes no son tan frecuentes como en la  $\beta$  talasemia mayor.

**En el caso presentado, se realiza un primer diagnóstico no correcto debido a 1) no correcta interpretación de los valores de las fracciones de la Hb y 2) falso homocigoto para la mutación *HBB* c.25\_26delAA; mediante SANGER sólo se analiza uno de los alelos, ya que el segundo alelo está delecionado.**

Caso: Doble heterocigoto *HBB* c.25\_26delAA / Spanish  $\delta\beta^0$  talasemia.

