



## Revisión

# Estudio de la alfa-talasemia en el laboratorio clínico: genotipos-fenotipos de interés clínico y su abordaje diagnóstico

## *Study of alpha-thalassemia in the clinical laboratory: genotypes-phenotypes of clinical interest and their diagnostic approach*

*Herminio López-Escribano, Ausias Hervás-Romero*

Laboratorio de Bioquímica y Patología Molecular. Hospital Clínico Universitario de Valencia. Valencia

**Recibido:** 20/12/2021  
**Aceptado:** 23/12/2021

**Correspondencia:** Herminio López-Escribano. Laboratorio de Bioquímica y Patología Molecular. Hospital Clínico Universitario de Valencia. Avenida Blasco Ibáñez, 17. 46010 Valencia  
e-mail: escribanox@yahoo.es

### Palabras clave:

Alfa-talasemia. Hidropesía fetal.  
Hemoglobina H. Diagnóstico prenatal.

### RESUMEN

La alfa-talasemia es una de las anomalías genéticas de la hemoglobina más comunes y es debida a la producción reducida o ausente de la cadena alfa-globina. La talasemia se limitó inicialmente a regiones tropicales y subtropicales, incluyendo el Mediterráneo, África Subsahariana, Oriente Medio y sudeste asiático. Sin embargo, la migración desde áreas endémicas ha incrementado la frecuencia de talasemia en el norte y este de Europa. Mayoritariamente la alfa-talasemia es debida a deleciones que involucran uno o ambos genes de la alfa-globina y con menor frecuencia, es causada por mutaciones no delecionales. Se han descrito un gran número de mutaciones responsables de alfa-talasemia cuya combinación da como resultado un amplio espectro de fenotipos hematológicos y clínicos. La forma más grave de alfa-talasemia se debe a una ausencia de expresión de los genes alfa denominada hidropesía fetal con hemoglobina de Bart. La detección de portadores y el diagnóstico prenatal son procedimientos de gran valor que identifican a parejas en riesgo de tener hijos afectados. El estudio molecular facilita el diagnóstico prenatal y contribuye al diagnóstico definitivo de portadores y pacientes.

*Conflicto de intereses:* los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

DOI: 10.20960/revmedlab.00116

López-Escribano H, Hervás-Romero A. Estudio de la alfa-talasemia en el laboratorio clínico: genotipos-fenotipos de interés clínico y su abordaje diagnóstico. Rev Med Lab 2021;2(3):100-108

### Keywords:

Alpha-thalassemia. Hydrops fetalis.  
Hemoglobin H. Prenatal diagnosis.

### ABSTRACT

Alpha-thalassemia is one of the most common hemoglobin genetic abnormalities and is caused by the reduced or absent production of the alpha-globin chain. Thalassaemia was initially confined to the tropical and subtropical regions, including the Mediterranean, Sub-Saharan Africa, Middle East, and Southeast Asia. However, migration from endemic areas have increased the frequencies of thalassaemia in Northern and Western Europe. Alpha-thalassemia is caused most frequently by deletions involving one or both alpha-globin genes and less commonly by non-deletional mutations. A large number of alpha-thalassemia mutations have been described and their interaction results in the wide spectrum of hematological and clinical phenotypes. The most severe form of alpha-thalassemia is a condition with no expression of  $\alpha$ -genes and is called hemoglobin Bart's hydrops fetalis syndrome. Carrier detection and prenatal diagnosis represent valuable procedures that identify couples at risk for having affected children. Molecular studies facilitate prenatal diagnosis and definitive diagnosis of carriers and patients.

## INTRODUCCIÓN

Las talasemias son las enfermedades monogénicas más comunes en el mundo. Se caracterizan por una disminución en la síntesis de las cadenas polipeptídicas de la molécula de hemoglobina (Hb). Las más frecuentes son la alfa-talasemia ( $\alpha$ -tal) y beta-talasemia ( $\beta$ -tal) donde disminuye la cadena alfa ( $\alpha$ ) y beta ( $\beta$ ) respectivamente (1).

Aunque la  $\beta$ -tal tiene una mayor significación clínica, la  $\alpha$ -tal tiene una elevada frecuencia (superior al 5 %) en regiones tropicales y subtropicales (Sudeste Asiático, África, Mediterráneo, Oriente Medio y subcontinente indio). En algunas zonas de estas regiones (Melanesia y Nepal) podemos encontrar frecuencias que superan el 70-90 %. Además, se estima que el 5 % de la población mundial es portadora de alguna variante de la alfa-globina (1,2).

La alta frecuencia de portadores en regiones tropicales y subtropicales (zonas prevalentes de malaria) se debe a la ventaja selectiva de estos individuos frente a la malaria severa, ya que las alteraciones en los genes de la globina (incluida la  $\alpha$ -tal) protegen de los estragos de la infección por *Plasmodium* (3).

En las últimas décadas, los flujos migratorios en países con alta prevalencia de hemoglobinopatías ( $\alpha$ -tal,  $\beta$ -tal y variantes estructurales como la HbS) han supuesto un gran reto para los sistemas de salud y laboratorios clínicos, debido a la necesidad de detectar a individuos portadores o afectados de estas entidades y realizar un diagnóstico precoz (4). Un ejemplo en países de nuestro entorno es la implicación del National Health Service (NHS) del Reino Unido en la detección de portadores en los programas de cribado de drepanocitosis y talasemia, programa que se inició en 2001 y que quedó completamente implementado en 2008 (5,6).

## ESTRUCTURA Y SÍNTESIS DE LA HB

La molécula de Hb es un tetrámero formado por dos pares de cadena de globina junto a un grupo hemo unido a cada cadena. Dependiendo de la combinación entre los tipos de globina se dan lugar los diferentes tipos de Hb.

Más del 95 % de la Hb presente en el adulto y en niños mayores de 1 año es HbA y está formada por dos cadenas  $\alpha$  y dos cadenas  $\beta$  ( $\alpha_2\beta_2$ ). Los adultos tienen un 2-3,5 % de HbA<sub>2</sub>, la cual está compuesta por dos cadenas  $\alpha$  (como las de la HbA) y dos cadenas delta ( $\delta$ ) ( $\alpha_2\delta_2$ ). Las cadenas  $\delta$  y las  $\beta$  están bajo un control genético independiente (el gen  $\delta$  se expresa en mucha menor cantidad, de ahí, su bajo porcentaje).

La Hb fetal (HbF) es el componente mayoritario de la Hb del recién nacido. Posee dos cadenas  $\alpha$  y dos cadenas  $\gamma$  (en lugar de dos cadenas  $\beta$ ) y se representa como  $\alpha_2\gamma_2$ . En el recién nacido, constituye el 70-90 % de la Hb total; su concentración disminuye al 2-3 % alrededor del sexto mes de vida, quedando en la vida adulta una cantidad que no supera el 1 %. La HbF está adaptada al ambiente materno-fetal y tiene una mayor afinidad por el oxígeno que la HbA. Durante las primeras etapas de gestación, las Hb embrionarias Gower I ( $\zeta_2\varepsilon_2$ ), Gower II ( $\alpha_2\varepsilon_2$ ) y Portland ( $\zeta_2\gamma_2$ ) son las predominantes, pero a partir del primer mes de gestación, su expresión decae a favor de la HbF.

La expresión de cada una de las cadenas de globina varía a lo largo del tiempo (Fig. 1), sintetizándose distintos tipos de Hb según las distintas etapas del desarrollo (7). La cadena  $\alpha$  forma parte de la mayoría de las Hb (HbA, HbA<sub>2</sub>, HbF y Hb Gower II), por tanto, su déficit tiene consecuencias incluso durante el desarrollo embrionario y fetal. La ausencia total de cadenas  $\alpha$  es incompatible con la vida, a diferencia del déficit de otras cadenas de la Hb como la  $\beta$  ( $\beta$ -tal), donde la clínica

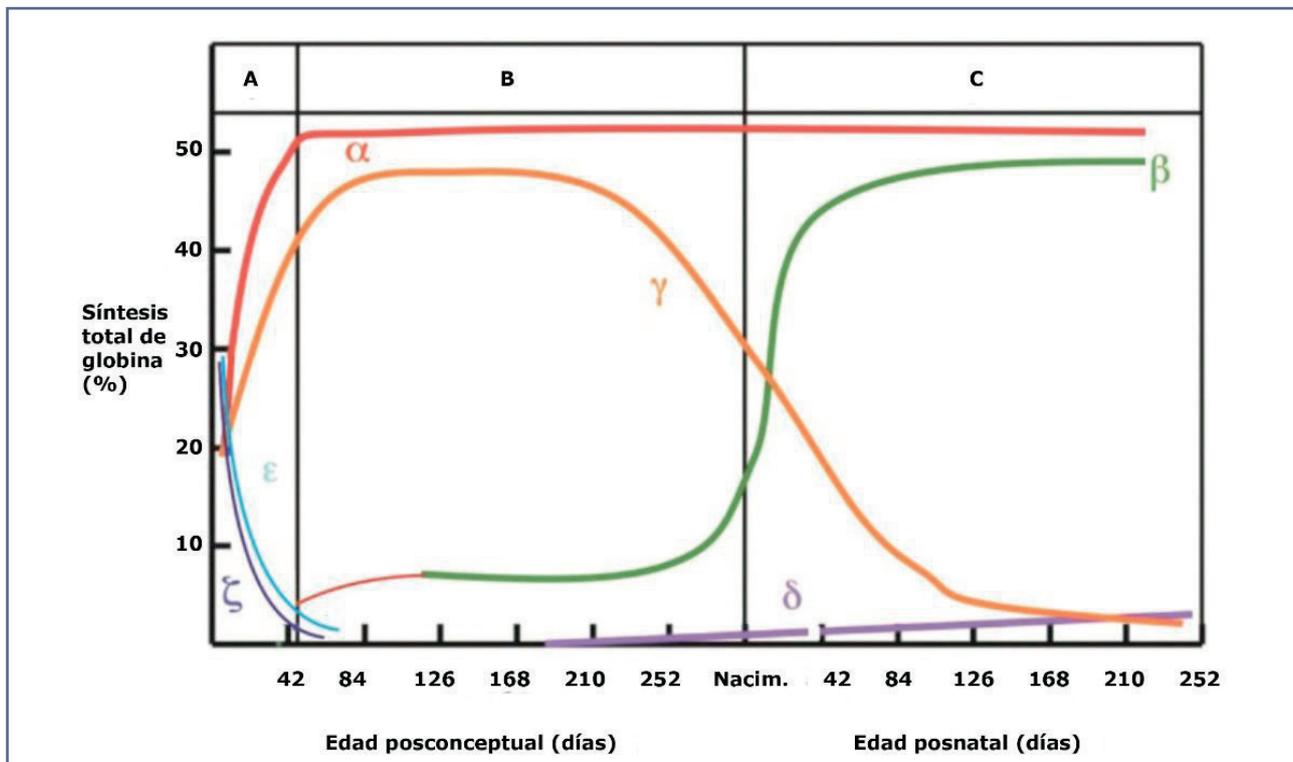


Figura 1 – Síntesis de hemoglobina durante los distintos estadios del desarrollo.

en individuos afectados comienza durante el primer año de vida, cuando se realiza el cambio de HbF a HbA.

Los genes que codifican para las distintas cadenas de Hb se encuentran agrupados en la superfamilia génica de las globinas. Concretamente, las familias génicas de las globinas  $\alpha$  y  $\beta$  están formadas por distintos genes (alfa, beta, gamma, delta, épsilon, zeta), cuyos productos génicos están involucrados en el transporte del oxígeno durante el desarrollo del ser humano. Además, también se han descrito tres pseudogenes ( $\psi\zeta$ ,  $\psi\alpha$  y  $\psi\beta$ ).

Podemos clasificar los genes en dos familias génicas: el grupo (o clúster)  $\alpha$  y el grupo (o clúster)  $\beta$ . El grupo  $\alpha$  se localiza en el brazo corto del cromosoma 16 y contiene además de dos genes para la cadena  $\alpha$  (HBA1 para  $\alpha_1$  y HBA2 para  $\alpha_2$ ), el gen de la cadena  $\zeta$  (2). Los genes HBA1 y HBA2 son prácticamente idénticos, aunque la tasa de transcripción es mayor para el gen HBA2 (8). El grupo  $\beta$  se localiza en el brazo corto del cromosoma 11 e incluye a los genes de las cadenas  $\epsilon$ ,  $\gamma$ ,  $A\gamma$ ,  $\delta$ , y  $\beta$  (Fig. 2).

Los genes de ambos clústeres están situados en el orden en el cual van a ser expresados durante el desarrollo. Este cambio de expresión temporal (*globin switching*) va también acompañado del cambio de localización mayoritaria de la eritropoyesis (saco vitelino, entre la tercera y la octava semana de gestación; hígado fetal desde la quinta semana hasta poco después del nacimiento; y médula ósea, en el adulto).

## BASES MOLECULARES: NOMENCLATURA Y GENOTIPOS

En un individuo no afecto, las cadenas  $\alpha$  están sintetizadas por cuatro genes  $\alpha$  con gran homología de secuencia (dos en cada copia del cromosoma 16, denominados HBA2 y HBA1 o  $\alpha_2$  y  $\alpha_1$ ). Este genotipo se denomina ( $\alpha_2\alpha_1/\alpha_2\alpha_1$ ) o ( $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ ) donde nos encontramos los cuatro genes alfa funcionantes.

Más de 120 mutaciones han sido identificadas en la  $\alpha$ -talasemia. Las alteraciones más frecuentes son las resultantes de las deleciones de uno ( $-\alpha$ ) o ambos genes  $\alpha$  ( $--$ ) del cromosoma. Las mutaciones puntuales en regiones críticas de  $\alpha_2$  ( $\alpha^{ND}\alpha$ ) o  $\alpha_1$  ( $\alpha\alpha^{ND}$ ) se denominan "mutaciones no delecionales" o ND (*non-deletional*) y se asocian normalmente a fenotipos clínicos más severos, pero son mucho menos frecuentes (7).

Cuando la mutación anula la expresión de ambos genes  $\alpha$  de un cromosoma, hablamos de  $\alpha^0$  talasemia ( $\alpha^0$ -tal) y cuando anula la expresión de un solo gen alfa ( $\alpha_2$  o  $\alpha_1$ ) en homocigosis o heterocigosis, hablamos de  $\alpha^+$  talasemia ( $\alpha^+$ -tal). Por tanto, podemos realizar una clasificación de los genotipos de  $\alpha$ -tal en función del número de genes afectados y su posición en el mismo cromosoma o cromosoma homólogo:

- $\alpha^+$ -tal delecional: ( $-\alpha/\alpha\alpha$ ), ( $-\alpha/-\alpha$ ). Debido a la elevada homología en los genes  $\alpha_2$  y  $\alpha_1$ , ambos con un tamaño de 4 Kb, se pueden producir deleciones durante la recombinación homóloga de estos genes (9).

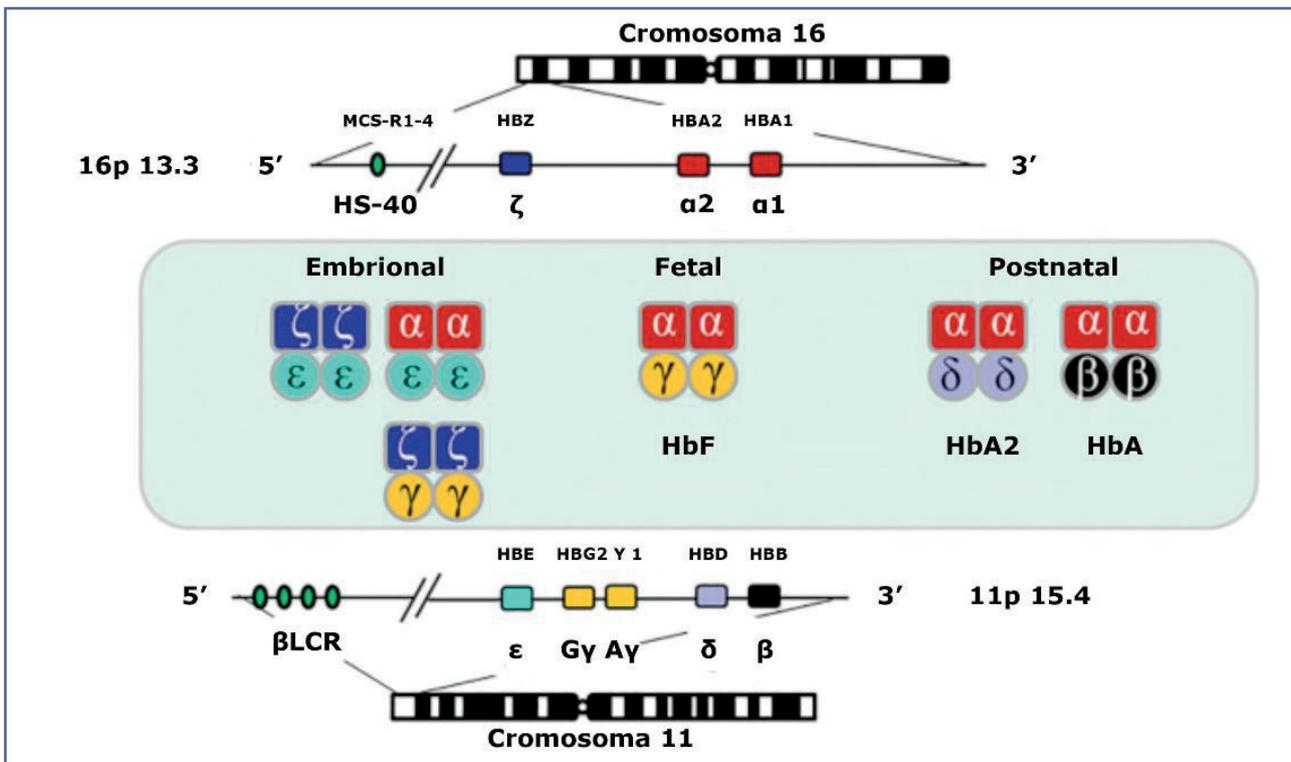


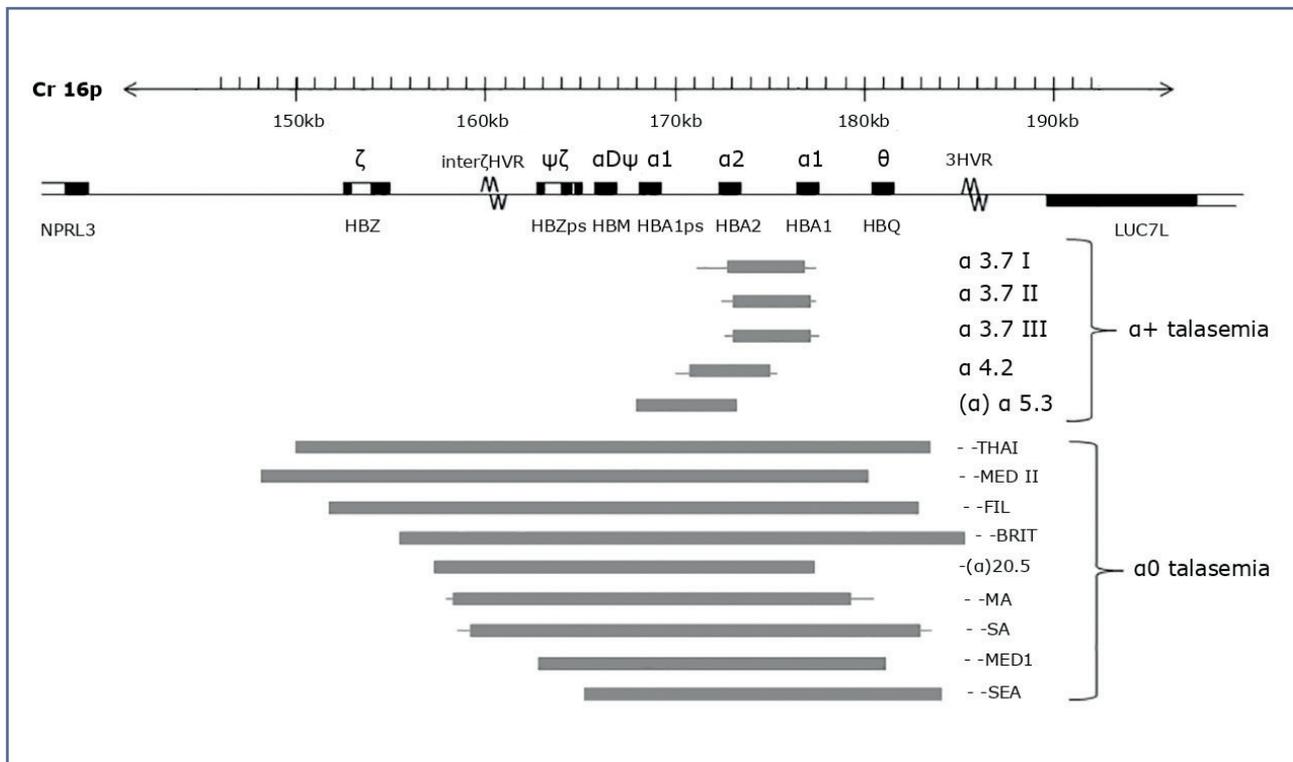
Figura 2 – Clúster de genes de la globina.

Las deleciones más frecuentes son las de 3.7 Kb o 4.2 Kb, denominadas 3.7 y 4.2 respectivamente (Fig. 3). Estas deleciones causan la pérdida de genes  $\alpha 2$  y hablamos de  $\alpha^+$ -tal en heterocigosis ( $-\alpha/\alpha\alpha$ ) si hay pérdida de un gen  $\alpha 2$  o  $\alpha^+$ -tal en homocigosis ( $-\alpha/-\alpha$ ) si hay pérdida de dos genes  $\alpha 2$  en trans (cada gen  $\alpha 2$  en un cromosoma homólogo).

- $\alpha^+$ -tal no delecional: ( $\alpha^{ND}\alpha/\alpha\alpha$ ), ( $\alpha^{ND}\alpha/\alpha^{ND}\alpha$ ). Hablamos de  $\alpha^+$ -tal no delecional cuando se producen mutaciones puntuales, pequeñas inserciones o deleciones de nucleótidos que afectan a regiones críticas de la expresión de los genes  $\alpha$ . Son mucho menos frecuentes que las grandes deleciones, pero estas alteraciones producen una menor expresión de cadenas  $\alpha$ . Suelen afectar a la estabilidad de las cadenas o de su ARN mensajero, cursando con clínica más severa, especialmente las que afectan a  $\alpha 2$  (gen que más se expresa en condiciones normales). Estas mutaciones pueden afectar a un solo gen ( $\alpha 1$  o  $\alpha 2$ ) produciendo la  $\alpha^+$ -tal no delecional en heterocigosis ( $\alpha^{ND}\alpha/\alpha\alpha$ ). Si afecta a dos genes  $\alpha$ , hablamos de  $\alpha^+$ -tal no delecional en homocigosis ( $\alpha^{ND}\alpha/\alpha^{ND}\alpha$ ), menos frecuente que la anterior. Ejemplos de estas mutaciones no delecionales son (7):  $\alpha^{IVS1(-5nt)}$  en población mediterránea, mutaciones en regiones de poliadenilación ( $\alpha^{2AA-TAAG}$ ,  $\alpha^{2AATGAA}$ ,  $\alpha^{2AATA-}$ ) en población mediterránea y Oriente Medio, mutaciones que afectan al codón de terminación produciendo una elongación

de la cadena (Hb Constant Spring, Hb Icaria, Hb Koya Dora, Hb Seal Rock, Hb Pakse) en Oriente Medio, Mediterráneo y sudeste asiático y mutaciones que causan variantes estructurales muy inestables en la cadena  $\alpha$  (Hb Quong Sze, Hb Adana, Hb Agrinio, Hb Taybe). La información de estas mutaciones no delecionales se puede encontrar en la base de datos HbVar disponible en la red y en continua actualización (10,11).

- $\alpha^0$ -tal delecional en heterocigosis: ( $--/\alpha\alpha$ ). Se produce cuando hay una deleción en heterocigosis que afecta a ambos genes  $\alpha 2$  y  $\alpha 1$ , total o parcialmente en cis (en el mismo cromosoma), implicando una ausencia de expresión de ambas cadenas  $\alpha$  por el alelo implicado ( $--/\alpha\alpha$ ) (Fig. 3). Las deleciones más frecuentes que implican a ambos genes son: ( $--^{SEA}/\alpha\alpha$ ), ( $--^{FIL}/\alpha\alpha$ ) y ( $--^{TAI}/\alpha\alpha$ ) en el sudeste asiático y la ( $--^{MED}/\alpha\alpha$ ) y ( $--^{20.5}/\alpha\alpha$ ) en determinadas regiones del Mediterráneo (Turquía, Cerdeña, Grecia y Chipre). Otras deleciones muy infrecuentes se han encontrado en regiones reguladoras del clúster  $\alpha$  sin afectar a los genes  $\alpha$ , pero con el mismo efecto, la ausencia de expresión de cadenas  $\alpha$ .
- $\alpha^0$ -tal delecional en homocigosis: ( $--/--$ ). Cuando la deleción se encuentra en homocigosis ( $--/--$ ), hay ausencia de expresión de cadenas  $\alpha$  y es incompatible con la vida ya que las cadenas  $\alpha$  forman parte de las Hb predominantes en periodo embrionario, fetal, neonatal y adulto.



**Figura 3** – Representación esquemática de deleciones más  $\alpha^+$  y  $\alpha^0$  más frecuentes en el clúster  $\alpha$  (cromosoma 16).

Esta condición clínica conlleva la muerte fetal intrauterina (23-38 semanas de gestación) o a los pocos días del nacimiento (hidropesía fetal con Hb de Bart) (*hydrops fetalis*), además de provocar complicaciones en la gestante durante el embarazo (anemia severa, preeclampsia, polihidramnios).

Por tanto, cuando realizamos un estudio de  $\alpha$ -tal es importante disponer del origen étnico del paciente, ya que el protocolo a seguir será distinto si nos encontramos ante un individuo procedente de una zona de alta prevalencia de  $\alpha^+$ -tal o  $\alpha^0$ -tal.

## DISTRIBUCIÓN DE MUTACIONES

Es bastante conocida la distribución y prevalencias de portadores de talasemia en el mundo (1,12,13), encontrando las mayores prevalencias en regiones tropicales y subtropicales, especialmente de  $\alpha$ -tal.

En el continente africano, la mutación más prevalente es la deleción 3.7 Kb ( $\alpha^+$ -tal) con un 5-40 % de portadores, según la región estudiada.

En el área del mediterráneo, también encontramos la deleción 3.7 Kb ( $\alpha^+$ -tal) con una prevalencia elevada (5-15 %), aunque existen zonas con alta prevalencia (5 %) de  $\alpha^0$ -tal ( $-^{\text{MED}}/\alpha\alpha$ ) como Turquía, Cerdeña, Grecia y Chipre.

Oriente Medio tiene una prevalencia de la deleción 3.7 Kb ( $\alpha^+$ -tal) del 60 % y el subcontinente indio del 15-80 % si incluimos la deleción 3.7 Kb ( $\alpha^+$ -tal) y la 4.2 Kb ( $\alpha^+$ -tal).

Por último, el Sudeste Asiático la  $\alpha^+$ -tal tiene una prevalencia del 5-15 % pero con zonas de alta prevalencia de  $\alpha^0$ -tal ( $-^{\text{SEA}}/\alpha\alpha$ ) (5 %).

## CORRELACIÓN GENOTIPO-FENOTIPO

Debido a la alta distribución en el mundo de  $\alpha^+$ -tal, la deleción de un gen  $\alpha$  ( $-\alpha/\alpha\alpha$ ) o  $\alpha^+$ -tal en heterocigosis, es la alteración que más frecuentemente nos encontramos en los análisis rutinarios de laboratorio en la población mediterránea. Los individuos afectados cursan con una hemoglobina corpuscular media (HCM) y un volumen corpuscular medio (VCM) discretamente reducidos o dentro del límite inferior de normalidad y son clínicamente silentes. Estos parámetros varían en función del número de genes alfa afectados, por tanto, si cursan con  $\alpha^+$ -tal en homocigosis ( $-\alpha/-\alpha$ ) o  $\alpha^0$ -tal en heterocigosis ( $-/\alpha\alpha$ ), encontramos valores más disminuidos de HCM y VCM.

Individuos con tres genes  $\alpha$  delecionados ( $-/-\alpha$ ) y, por tanto, con la síntesis de cadena  $\alpha$  muy disminuida, cursan con anemia moderada en la mayoría de los casos (enfermedad de la Hb H), aunque determinados genotipos, de los cuales hablaremos posteriormente, pueden cursar con fenotipos clínicos más severos.

Por tanto, la mayoría de los individuos portadores de  $\alpha$ -tal (a excepción de la enfermedad de la Hb H) son clínicamente silentes. El diagnóstico se realiza durante un análisis rutinario en el que se evalúa la serie roja o en los programas de detección de portadores de hemoglobinopatías (en los países donde incluyen el cribado por la elevada prevalencia de hemoglobinopatías).

### Enfermedad de la Hb H

Entidad clínica que se presenta en individuos dobles heterocigotos que portan una delección  $\alpha^0$  en un cromosoma y una  $\alpha^+$  en el cromosoma homólogo ( $-\alpha/-$ ). Estos pacientes tienen un único gen  $\alpha$  funcional y expresan solo un 25 % de cadena  $\alpha$ . Esta enfermedad cursa con anemia moderada (Hb de 8-10 g/dL) y un HCM y VCM marcadamente disminuidos.

El estudio de fracciones de Hb mediante electroforesis capilar (EC), cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) y tinción de sangre periférica con azul de cresil brillante (14,15), nos permite detectar el exceso de cadenas  $\beta$  que no puede interaccionar con cadenas  $\alpha$ . Este exceso de cadenas  $\beta$  libres produce la formación de tetrámeros  $\beta$  ( $\beta_4$ ) denominados Hb H. Durante el periodo neonatal, se forman tetrámeros  $\gamma$  ( $\gamma_4$ ) denominados Hb de Bart. Los tetrámeros tienen una elevada afinidad por el oxígeno y son muy inestables, precipitando y formando cuerpos de inclusión en los hematíes y produciendo diversos grados anemia hemolítica.

Estos pacientes no suelen requerir transfusiones y a menudo presentan esplenomegalia que puede complicarse con un hiperesplenismo. La ictericia puede presentarse en diversos grados y los niños pueden presentar retardo en el crecimiento.

La presencia de mutaciones no delecionales severas en ambos cromosomas, ya sean en homocigosis, doble heterocigosis ( $\alpha^{ND}\alpha/\alpha^{ND}\alpha$ ) o doble heterocigosis con mutaciones delecionales  $\alpha^0$  y no delecionales: ( $-/\alpha^{ND}\alpha$ ), cursa con una anemia más severa y con requerimientos transfusionales (enfermedad de Hb H severa).

Como se puede observar, el origen étnico, la prevalencia en las distintas áreas y los valores hematimétricos son decisivos para el especialista de laboratorio en el estudio de un tipo de mutación u otro ( $\alpha^+$ ,  $\alpha^0$ ). Normalmente, las formas clínicamente relevantes involucran una alteración  $\alpha^0$  talasemia coheredada con una alteración  $\alpha^+$  deleccional o no deleccional, cuyas entidades clínicas son la enfermedad de Hb H ( $-/-\alpha$ ) o la enfermedad de Hb H severa ( $-/\alpha^{ND}\alpha$ ).

### Hidropesía fetal con Hb de Bart

La presencia de dos mutaciones  $\alpha^0$  producirá la hidropesía fetal con Hb de Bart ( $-/-$ ) la cual es letal intraútero o a los pocos días del nacimiento, de ahí la importancia de detectar portadores de mutaciones en los progenitores que puedan producir este genotipo.

### IDENTIFICACIÓN DE PORTADORES MEDIANTE PRUEBAS HEMATOLÓGICAS

Los portadores de  $\alpha$ -tal cursan con microcitosis e hipocromía, aunque en función de las mutaciones estos parámetros pueden variar. Los índices eritrocitarios VCM y HCM son los más utilizados para la detección de portadores, siendo el HCM el parámetro más estable en el cribaje de talasemia. Es importante excluir la ferropenia como posible causa de microcitosis.

En los portadores  $\alpha^+$  en heterocigosis ( $-\alpha/\alpha^+$ ), los valores de HCM se solapan con los de individuos no afectados en numerosas ocasiones. En los individuos  $\alpha^+$  en homocigosis ( $-\alpha/-\alpha$ ) y  $\alpha^0$  en heterocigosis ( $-/\alpha^0$ ), encontramos una microcitosis e hipocromía más pronunciada con valores de HCM entre 26-22 pg y 20-22 pg respectivamente (Tabla I). Resultados más bajos de HCM (alrededor de 18 pg) junto con anemia moderada (8-10 g/dL) es característico de individuos con enfermedad de HbH ( $-/-\alpha$ ) (16).

Además, para diferenciarlos de portadores de la entidad clínica que afecta al gen beta ( $\beta$ -tal), se realiza un estudio de fracciones de Hb por electroforesis capilar o HPLC para cuantificar la HbA<sub>2</sub>, cuyo valor está dentro de la normalidad en la  $\alpha^+$  y  $\alpha^0$  talasemia (o entre 2,5-3,5 %) y disminuida (< 2 %) en la enfermedad de HbH, debido a la falta de expresión de cadenas  $\alpha$  que forman parte de la HbA<sub>2</sub> ( $\alpha_2\delta_2$ ). En el caso de la  $\beta$ -tal encontramos una HbA<sub>2</sub> aumentada (> 3,5 %).

Por tanto, en ausencia de variantes estructurales de la Hb que cursen con microcitosis, de  $\beta$  o delta beta talasemia ( $\delta\beta$ -tal) en heterocigosis y de deficiencia de hierro,

**Tabla I**  
Parámetros hematológicos en los portadores de genotipos más comunes de  $\alpha$ -talasemia

Genotipo	Sexo	Hb (g/dL) ± DE	VCM (fL) ± DE	HCM (pg) ± DE	HbA <sub>2</sub> (%) ± DE
$-\alpha^{3/7}/\alpha$	H	14,4 ± 0,9	75,4 ± 4,8	25,4 ± 2,1	2,5 ± 0,3
	M	12,0 ± 1,0			
$-\alpha^{3/7}/-\alpha$	H	13,6 ± 0,8	71,3 ± 3,0	23,8 ± 2,0	2,4 ± 0,3
	M	11,8 ± 0,9			
$\alpha^{ND}\alpha/\alpha\alpha$	H	14,4 ± 1,1	75,7 ± 3,0	25,6 ± 1,4	2,5 ± 0,3
	M	12,2 ± 0,8			
$-/-\alpha\alpha$	H + M	13,2 ± 1,6	65,0 ± 3,3	21,0 ± 1,3	2,4 ± 0,1
$-/-\alpha^*$	H + M	10,3 ± 0,8	61,0 ± 4,0	19,0 ± 1,0	< 2,0
$-/-\alpha^{ND}\alpha$	H + M	9,0 ± 0,7	64,0 ± 6,0	19,0 ± 1,0	< 2,0

\* Los sujetos con esos genotipos muestran una cantidad variable de HbH (hasta el 30 %). Datos tomados de Galanello y Cao *et al.* (16). ND: *non-deletional*; H: hombre; M: mujer; Hb: hemoglobina; DE: desviación estándar; VCM: volumen corpuscular medio; HCM: hemoglobina corpuscular media.

se debe considerar el estado de portador de  $\alpha$ -tal si el HCM es menor de 27 pg (17). En los casos donde el HCM sea inferior a 25 pg y el origen étnico sea de zonas de alta prevalencia de  $\alpha^0$ -tal, hay que considerar la posibilidad de heterocigosidad para mutaciones  $\alpha^0$ .

Los portadores de  $\alpha^+$  talasemia se detectan en numerosos grupos étnicos y con frecuencias muy elevadas (10-30 %) en determinadas regiones (África, sur de Asia). Esta condición no requiere confirmación genética si el origen étnico del portador no se encuentra dentro de las zonas de riesgo de  $\alpha^0$ , ya que la combinación de  $\alpha^+$  talasemia con otras alteraciones  $\alpha^+$  o  $\alpha^0$  no implican riesgo de hidropesía fetal con Hb de Bart en la descendencia (18).

## DIAGNÓSTICO MOLECULAR

Se dispone de métodos basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para detectar las mutaciones más frecuentes en la  $\alpha$ -tal. El método GAP-PCR, usando cebadores que flanquean la zona de corte de las deleciones, es uno de los más empleados en el estudio de deleciones  $\alpha^+$ -tal (delección 3.7 Kb y 4.2 Kb) y  $\alpha^0$ -tal ( $\alpha^0$ -SEA/ $\alpha\alpha$ ), ( $\alpha^0$ -FIL/ $\alpha\alpha$ ), ( $\alpha^0$ -TAL/ $\alpha\alpha$ ), ( $\alpha^0$ -MED/ $\alpha\alpha$ ) y ( $\alpha^0$ -20.5/ $\alpha\alpha$ ).

En los sujetos en los que no se detecten las deleciones anteriormente descritas, se deben estudiar otras menos frecuentes o nuevas deleciones. En estos casos es muy útil la técnica MLPA (*multiplex ligation-dependent probe amplification*), que dispone de numerosas sondas que cubren el clúster alfa, incluyendo sus regiones reguladoras. Para el estudio de mutaciones puntuales y pequeñas inserciones o deleciones de nucleótidos en la  $\alpha$ -tal no delecional, se requiere la amplificación y secuenciación de los genes  $\alpha$  ( $\alpha 1$  y  $\alpha 2$ ) (17).

## CONSEJO GENÉTICO

El consejo genético en la  $\alpha$ -tal es particularmente importante en los casos donde ambos miembros de la pareja sean portadores de deleciones  $\alpha^0$  ( $\alpha^0/\alpha\alpha$ ) o de la enfermedad de HbH ( $\alpha\alpha/\alpha^0\alpha$ ), ya que existe un riesgo 1:4 (25 %) de tener un feto afecto de hidropesía fetal con Hb de Bart ( $\alpha^0/\alpha^0$ ). En estos casos, el diagnóstico prenatal o preimplantacional está indicado no solo por la gravedad y la ausencia de un tratamiento efectivo en los individuos afectados, sino también para prevenir las complicaciones maternas durante el embarazo. Por esta razón, las regiones con alta prevalencia de  $\alpha^0$ -tal o de otras hemoglobinopatías tienen implementados programas de detección de portadores de esta condición (6,19,20).

En países con programas de cribado de hemoglobinopatías en el embarazo, si se detecta una gestante con un HCM < 25 pg, HbA<sub>2</sub> < 3,5 % y con origen étnico de zonas con alta prevalencia para  $\alpha^0$ -tal, se solicita un estudio a la pareja (hemograma y fracciones de Hb para determinar el porcentaje de HbA<sub>2</sub>). El estudio genético de  $\alpha^0$ -tal

se realiza solo si ambos progenitores tienen riesgo de  $\alpha^0$  para confirmarlo y además detectar el tipo de alteración a estudiar en el diagnóstico prenatal (5,17).

Las parejas en las que un progenitor es portador de una delección  $\alpha^0$  ( $\alpha^0/\alpha\alpha$ ) y el otro es portador de una mutación  $\alpha^+$  delecional ( $\alpha^0/\alpha\alpha$ ) o no delecional ( $\alpha^{\text{ND}}\alpha/\alpha\alpha$ ) tienen un riesgo 1:4 (25 %) de tener un bebe afecto de enfermedad de Hb H: ( $\alpha^0/\alpha^+$ ) o ( $\alpha^0/\alpha^{\text{ND}}\alpha$ ). En este caso, el diagnóstico prenatal no está indicado ya que son pacientes que cursan con anemia moderada y normalmente sin requerimientos transfusionales.

Desafortunadamente, aunque con baja frecuencia, encontramos casos donde la interacción de una delección  $\alpha^0$  con determinadas mutaciones no delecionales ( $\alpha^0/\alpha^{\text{ND}}\alpha$ ) o la presencia en homocigosis de mutaciones no delecionales ( $\alpha^{\text{ND}}\alpha/\alpha^{\text{ND}}\alpha$ ) cursan con un síndrome de enfermedad de Hb H severa/hidropesía fetal en cuyos casos habría que considerar el diagnóstico prenatal (17) (Tabla II).

Algunas de estas mutaciones no delecionales son causantes de Hb inestables que precipitan en los hematíes formando cuerpos de inclusión insolubles que dañan la membrana eritrocitaria. Dentro de las mutaciones no delecionales, podemos encontrar algunas con gran severidad clínica, como las mutaciones en la región de poliadenilación ( $\alpha 2^{\text{AATAAG}}$ ,  $\alpha 2^{\text{AATGAA}}$ ,  $\alpha 2^{\text{ATA-}}$ ) (21) que afectan a  $\alpha 2$ , o mutaciones que producen las variantes Hb Adana, Hb Agrinio, Hb *Constant Spring* (Hb CS) y Hb Taybe.

Tabla II Genotipos e interacciones de $\alpha$ -tal con indicación de diagnóstico genético prenatal o preimplantacional		
Interacción genotípica	Desorden esperado	Diagnóstico prenatal indicado
<i>Homocigoto</i>		
$\alpha^0$ -tal ( $\alpha^0/\alpha^0$ )	Hidropesía fetal con Hb de Bart	Sí
$\alpha^+$ -tal ( $\alpha^+/\alpha^+$ )	Sin clínica relevante	No
$\alpha^+$ -tal ( $\alpha^{\text{ND}}\alpha/\alpha^{\text{ND}}\alpha$ )	Posible síndrome de enfermedad de Hb H severa/hidropesía fetal	En ocasiones*
<i>Heterocigoto compuesto</i>		
$\alpha^0$ -tal/ $\alpha^+$ -tal ( $\alpha^0/\alpha^+$ )	Enfermedad de la HbH	No

ND: *non-deletional*. \*Las alteraciones involucradas en fenotipos más severos son: mutaciones en la región de poliadenilación ( $\alpha 2^{\text{AATAAG}}$ ,  $\alpha 2^{\text{AATGAA}}$  y  $\alpha 2^{\text{ATA-}}$ ) que afectan a  $\alpha 2$  o mutaciones que producen las variantes Hb Adana, Hb Agrinio, Hb *Constant Spring* y Hb Taybe.

## Hb Constant Spring

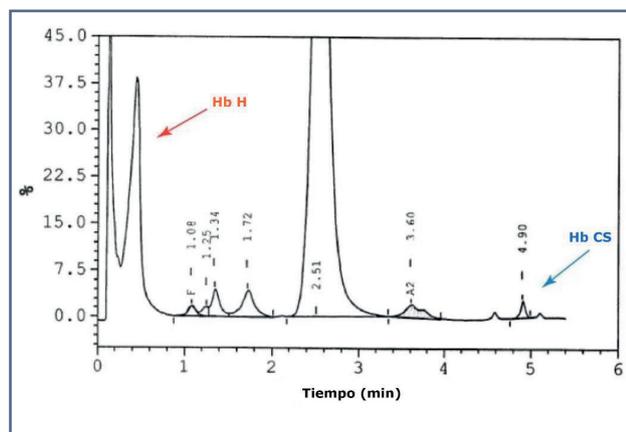
Mutación no delecional más prevalente. La mutación (HBA2: c.427T>C) provoca la sustitución de un codón de terminación (Term) por glutamina (Gln) en  $\alpha 2$  ( $\alpha 142$ , Term>Gln, TAA>CAA), produciéndose una elongación de la cadena  $\alpha$  (pasa a tener 172 aminoácidos en vez de 141) (22).

El ARN mensajero de la Hb CS es muy inestable, lo que dificulta su detección mediante electroforesis de Hb o HPLC. Debido a su baja expresión, se observa un porcentaje muy bajo de Hb CS (1-2 %) en los portadores.

Podemos encontrarla con una frecuencia del 5-10 % en regiones con alta prevalencia de  $\alpha^0$ -tal (sudeste asiático y China). Por tanto, en individuos de estas regiones no es infrecuente detectar genotipos ( $--/\alpha^{CS}\alpha$ ). Mediante el análisis de fracciones de Hb por HPLC, estos individuos tienen una imagen característica con presencia de Hb H y Hb CS (Fig. 4). Presentan un fenotipo clínico severo con anemia severa y necesidades transfusionales regulares (7). Por este motivo, se recomienda el diagnóstico prenatal en progenitores portadores de estas alteraciones (17).

## Mutaciones en región PolyA ( $\alpha 2^{AATAAG}$ , $\alpha 2^{AATGAA}$ y $\alpha 2^{AATA--}$ )

Las mutaciones en la región PolyA de  $\alpha 2$  corresponden a sustituciones (AATAAAA>AATAAG [HBA2: c.\*94A>G]; AATAAAA>AATGAA [HBA2: c.\*92A>G]) o deleciones de dos nucleótidos (AATAAAA>AATA-[ HBA2: c.\*93\_94delAA]) en la región 3'UTR del gen  $\alpha 2$ . Esta región es necesaria para el proceso de maduración del ARN mensajero y, por tanto, de la expresión génica.



**Figura 4** – HPLC de fracciones de hemoglobina de un paciente con enfermedad de HbH severa portador de deleción  $\alpha^0$  y de Hb Constant Spring ( $--/SEA/\alpha^{CS}\alpha$ ) (Hb CS). La flecha con un tiempo de retención de 0,5 min indica los tetrámeros  $\beta 4$  de Hb H (37 %) y la flecha con un tiempo de retención de 4,90 min indica la Hb Constant Spring ( $\alpha_2^{CS}\beta_2$ ) (0,7 %).

Se ha encontrado una elevada prevalencia de estas mutaciones en India ( $\alpha 2^{AATA--}$ ), Arabia Saudí ( $\alpha 2^{AATAAG}$ ) y Turquía ( $\alpha 2^{AATGAA}$ ). Los dobles heterocigotos con  $\alpha^0$  ( $--/\alpha^{PolyA}\alpha$ ) pueden cursar con fenotipos clínicos muy severos (enfermedad de Hb H con hidropesía fetal) (7,10).

## Hb Adana

La presencia de la mutación HBA2: c.179G>A en el codón 59 del gen  $\alpha 2$  produce un cambio del aminoácido glicina (Gly) a ácido aspártico (Asp). Este cambio de aminoácido provoca una inestabilidad en la cadena que produce la precipitación de la Hb, hemólisis y eritropoyesis ineficaz. La combinación con deleciones  $\alpha^0$  ( $--/\alpha^{Adana}\alpha$ ) o su presencia en homocigosis ( $\alpha^{Adana}\alpha/\alpha^{Adana}\alpha$ ), puede producir fenotipos clínicos muy severos (23).

Se han detectado una prevalencia elevada de portadores en Arabia Saudí (11,6 %), Indonesia (16 %) y Malasia con datos variables según las regiones (1-24 %) (7).

## Hb Agrinio

La mutación HBA2: c.89T>C es una sustitución que afecta al codón 29 (CTG>CCG) produciendo un cambio de leucina (Leu) a prolina (Pro), lo que genera una Hb muy inestable. Los individuos portadores de una deleción  $\alpha^0$  y de Hb Agrinio ( $--/\alpha^{Agrinio}\alpha$ ) cursan con formas muy severas de enfermedad de Hb H (24). Se ha encontrado con relativa frecuencia en individuos de Grecia con origen chipriota, zona de alto riesgo para  $\alpha^0$  talasemia ( $--/MED^I/\alpha\alpha$ ).

## Hb Taybe

Se produce por una deleción de tres nucleótidos en el codón 38 o 39 del gen de la cadena  $\alpha 1$  [HBA1: c.118\_120delACC], produciendo la pérdida de una treonina. El resultado es la síntesis de una Hb muy inestable, ya que afecta a la zona de contacto entre cadenas  $\alpha_1\beta_1$ . La presencia de esta Hb en homocigosis ( $\alpha\alpha^{Taybe}/\alpha\alpha^{Taybe}$ ) (25) o en doble heterocigosis para Hb Taybe y PolyA  $\alpha 2^{AATAAG}$  ( $\alpha\alpha^{Taybe}/\alpha^{AATAAG}\alpha$ ) (26) produce fenotipos clínicos severos. Ambas alteraciones aparecen en poblaciones de origen árabe.

## CONCLUSIONES

En el estudio de las  $\alpha$ -tal, el objetivo del profesional de laboratorio es identificar portadores de  $\alpha^0$  en heterocigosis ( $--/\alpha\alpha$ ) o individuos con enfermedad de HbH ( $--/\alpha$ ) mediante los parámetros hematológicos (Hb, HCM, HbA<sub>2</sub>), siempre teniendo en cuenta el origen étnico (zonas de alta prevalencia de  $\alpha^0$ -tal). Las zonas de alta prevalencia para  $\alpha^0$  son: este del Mediterráneo (Chipre, Grecia, Cerdeña y Turquía) y sudeste asiático

(China, Hong Kong, Tailandia, Taiwán, Camboya, Laos, Vietnam, Birmania, Singapur, Indonesia o Filipinas).

En el caso de estudios prenatales es muy importante determinar la alteración molecular en los portadores para así establecer un consejo genético adecuado. Dependiendo del tipo de mutaciones detectadas (delecionales o no delecionales), el diagnóstico prenatal está indicado en los casos de riesgo para la hidropesía fetal con Hb de Bart (---) y la enfermedad de Hb H severa con hidropesía fetal (---/ $\alpha^{ND}\alpha$ ) ( $\alpha^{ND}\alpha/\alpha^{ND}\alpha$ ).

## BIBLIOGRAFÍA

- Piel FB, Weatherall DJ. The alpha-thalassaemias. *N Engl J Med* 2014;371:1908-16. DOI: 10.1056/NEJMra1404415
- Farashi S, Hartevelde CL. Molecular basis of alpha-thalassaemia. *Blood Cells Mol Dis* 2018;70:43-53. DOI: 10.1016/j.bcmd.2017.09.004
- Weatherall DJ. Genetic variation and susceptibility to infection: the red cell and malaria. *Br J Haematol* 2008;141:276-86. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2008.07085.x
- Henderson S, Timbs A, McCarthy J, Gallienne A, Van Mourik M, Masters G, et al. Incidence of haemoglobinopathies in various populations - the impact of immigration. *Clin Biochem* 2009;42:1745-56. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2009.05.012
- NHS Sickle Cell and Thalassaemia Screening Programme. Handbook for Antenatal Laboratories 2017. Disponible en: <https://www.gov.uk/government/publications/sickle-cell-and-thalassaemia-screening-handbook-for-laboratories>
- Weil LG, Charlton MR, Coppinger C, Daniel Y, Streetly A. Sickle cell disease and thalassaemia antenatal screening programme in England over 10 years: a review from 2007/2008 to 2016/2017. *J Clin Pathol* 2020;73:183-90. DOI: 10.1136/jclinpath-2019-206317
- Kalle Kwaifa I, Lai MI, Md Noor S. Non-deletional alpha thalassaemia: a review. *Orphanet J Rare Dis* 2020;15(1):166. DOI: 10.1186/s13023-020-01429-1
- Shakin SH, Liebhaber SA. Translational profiles of alpha 1-, alpha 2-, and beta globin messenger ribonucleic acids in human reticulocytes. *J Clin Invest* 1986;78:1125-9. DOI: 10.1172/JCI112670
- Embury SH, Miller JA, Dozy AM, Kan YW, Chan V, Todd D. Two different molecular organizations account for the single alpha-globin gene of the alpha-thalassaemia-2 genotype. *J Clin Invest* 1980;66:1319-25. DOI: 10.1172/JCI109984
- Giardine B, Borg J, Viennas E, Pavlidis C, Moradkhani K, Joly P. Updates of the HbVar database of human hemoglobin variants and thalassaemia mutations. *Nucleic Acids* 2014;42. DOI: 10.1093/nar/gkt911
- Patrinos GP, Giardine B, Riemer C, Miller W, Chui DH, Anagnou NP, et al. Improvements in the HbVar database of human hemoglobin variants and thalassaemia mutations for population and sequence variation studies. *Nucleic Acids Res* 2004;32:D537-D541. DOI: 10.1093/nar/gkh006
- Weatherall DJ, Clegg JB. The thalassaemia syndromes. 4th ed. Oxford, England: Blackwell Science; 2001. DOI: 10.1080/0036510601046417
- Hartevelde CL, Higgs DR.  $\alpha$ -thalassaemia. *Orphanet J Rare Dis* 2010;5:13. DOI: 10.1186/1750-1172-5-13
- Chui DH. Alpha-thalassaemia. Hb H disease and Hb Barts hydrops fetalis. *Ann N Y Acad Sci* 2005;1054:25-32. DOI: 10.1196/annals.1345.004
- Galanello R, Paglietti E, Melis MA, Giagu L, Cao A. Hemoglobin inclusions in heterozygous alpha-thalassaemia according to their alpha-globin genotype. *Acta Haematol* 1984;72:34-6. DOI: 10.1159/000206353
- Galanello R, Cao A. Gene test review. Alpha-thalassaemia. *Genet Med* 2011;13:83-8. DOI: 10.1097/GIM.0b013e3181fcb468
- Traeger-Synodinos J, Hartevelde CL, Old JM, Petrou M, Galanello R, Giordano P, et al. EMQN Best Practice Guidelines for molecular and haematology methods for Carrier identification and prenatal diagnosis of the haemoglobinopathies. *Eur J Human Genet* 2015;23:426-37. DOI: 10.1038/ejhg.2014.131
- Ryan K, Brain BJ, Worthington D, James J, Plews D, Mason A, et al. Significant haemoglobinopathies: guidelines for screening and diagnosis. *Br J Haematol* 2010;149:35-49. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2009.08054.x
- Leung KY, Lee CP, Tang MH, Lau ET, Ng LK, Lee YP, et al. Cost-effectiveness of prenatal screening for thalassaemia in Hong Kong. *Prenat Diagn* 2004;24:899-907. DOI: 10.1002/pd.1035
- Liao C, Mo QH, Li J, Li LY, Huang YN, Hua L, et al. Carrier screening for alpha and beta-thalassaemia in pregnancy: the results of an 11-year prospective program in Guangzhou Maternal and Neonatal hospital. *Prenat Diagn* 2005;25:163-71. DOI: 10.1002/pd.1079
- Hartevelde CL, Losekoot M, Haak H, Heister GA, Giordano PC, Bernini LF. A novel polyadenylation signal mutation in the alpha 2-globin gene causing alpha thalassaemia. *Br J Haematol* 1994;87:139-43. DOI: 10.1111/j.1365-2141.1994.tb04883.x
- Jomoui W, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Nguyen VH, Fucharoen S. Constant Spring among Southeast Asian Populations: Haplotypic Heterogeneities and Phylogenetic Analysis. *Hemoglobin* 2015;10:e0145230. DOI: 10.1371/journal.pone.0145230
- Nainggolan IM, Harahap A, Setianingsih I. Hydrops fetalis associated with homozygosity for Hb Adana [ $\alpha$ 59(E8) Gly>Asp( $\alpha$ 2)]. *Hemoglobin* 2010; 34:394-401. DOI: 10.3109/03630269.2010.493405
- Felekis X, Phylactides M, Drousiotou A, Christou S, Kyrii A, Kyriakou K, et al. Hb Agrinio [ $\alpha$ 29(B10) Leu>Pro( $\alpha$ 2)] in combination with --<sup>MED</sup>1. Result in a severe form of HbH disease. *Hemoglobin* 2008;32:237-46. DOI: 10.1080/03630260802004103
- Arnon S, Tanary H, Dgany O, Litmanovitz I, Regev R, Bauer S, et al. Hydrops fetalis Associated with Homozygosity for Hemoglobin Taybe (Alpha 38/39 THR deletion) in Newborn Triplets. *Am J Hematol* 2004;76:263-6. DOI: 10.1002/ajh.20094
- Pobedimskaya DD, Molchanova TP, Streichman S, Huisman TH. Compound Heterozygosity for two-alpha globin gene defects (alpha1; 38 or 39 minus Thr) and a poly A mutation (alpha 2; AATAAA>AATAAG), result in a severe hemolytic anemia. *Am J Hematol* 1994;47:198-202. DOI: 10.1002/ajh.2830470310