

Medio diagnóstico rápido y de bajo costo en la anemia drepanocítica

Rapid and low cost diagnostic mean in sickle cell anemia

La anemia drepanocítica (AD) es la enfermedad hematológica y multisistémica de origen genético más frecuente en Cuba y el mundo ¹⁻², es consecuencia de una mutación puntual en la cadena β de la globina, tiene herencia recesiva y expresión homocigótica, que resulta en una hemoglobina (Hb) estructuralmente anormal (HbS), con un genotipo Hb/SS^{2,3}. A diferencia de la Hb normal del adulto (HbA), la molécula de HbS se polimeriza y se convierte en insoluble en condiciones de hipoxia, lo que da lugar a anomalías estructurales y funcionales de los eritrocitos. Los eritrocitos falciformes tienen una fragilidad aumentada y son propensos a romperse y ocluir los vasos sanguíneos donde se adhieren, lo que ocasiona una anemia hemolítica crónica, crisis dolorosas intensas, flujo sanguíneo anormal en órganos diana, lo que puede provocar sintomatología variada y la muerte temprana de los pacientes³.

El diagnóstico temprano de la AD es un elemento imprescindible para la prevención y el control de la enfermedad. Sin embargo, esto aún no es posible en la mayoría de los países donde tiene una elevada prevalencia, en particular en África subsahariana. Entre el 50 – 90 % de los casi 230 000 niños africanos que nacen cada año con esta enfermedad, mueren antes de los 5 años de vida sin acceso a un diagnóstico certero y a los cuidados de salud^{4,5}. También, la cuantificación de la HbS en los pacientes con AD que reciben hidroxiurea o sometidos a regímenes de hipertransfusión es esencial para el monitoreo de la efectividad de estos tratamientos, pero los métodos convencionales de laboratorio, fundamentalmente la electroforesis de Hb, la cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC, siglas en inglés) y la focalización isoelectrica, requieren de equipos y medios de diagnóstico costosos, y de personal altamente calificado; por ello es cada vez más difícil sostener programas integrales de salud que permitan la prevención basada en el diagnóstico neonatal o prenatal, donde además se requiere de pruebas de biología molecular⁵.

Varios esfuerzos se han desarrollado por la comunidad científica para mejorar la accesibilidad y reducir el costo. Uno de los primeros resultados se obtuvo en la Universidad de Harvard midiendo la densidad de masa de los eritrocitos (g/cm^3), característica biofísica capaz de diferenciar a los eritrocitos drepanocíticos de los normales. El sistema se llevó a ensayos de terreno en Zambia y se demostró que la sensibilidad y especificidad no eran tan elevadas como en los procedimientos "estándares de oro" (HPLC o la focalización isoeléctrica), a lo que se suma que requiere de una centrifugación⁶, por lo que representa un problema en lugares de difícil acceso a energía eléctrica.

En 2015, investigadores de la Universidad de Texas y del Colegio de Medicina Baylor, de Houston, publicaron un método rápido de diagnóstico de AD y cuantificación de HbS basado en el uso de solo 20 μL de sangre total mezclada con una solución de solubilización y colocada sobre papel cromatográfico⁷. El examen se evalúa en menos de 35 min y el costo de cada prueba es menor que \$ 0.25 USD. Además, el método es preciso en un amplio rango de valores de HbS (10 – 97 %) y para concentraciones de Hb entre 5.6 - 12.9 g/dL, lo que hace que sea útil para fines de diagnóstico y monitoreo de pacientes⁸.

Por otra parte, investigadores en Ohio, publicaron un prototipo de inmunoensayo novedoso, rápido y de bajo costo, para uso en la propia consulta médica o al pie de la cama del paciente, con el nombre comercial de *Sickle SCAN*TM (BioMedomics, Inc., EEUU), diseñado para identificar HbA, HbS y HbC⁹. En comparación con la electroforesis capilar, se evaluaron 139 muestras de sangre con una sensibilidad entre 98.3-100 % y una especificidad entre 92.5-100 % para estas tres variantes de Hb. Se logró una especificidad diagnóstica en los pacientes Hb/SS de 98.6 %, una sensibilidad de 98.4 % y 100 % de sensibilidad y especificidad en el diagnóstico de aquellos con Hb/SC, según el estudio de validación¹⁰. La mayoría de las variantes de Hb, incluyendo los altos niveles de hemoglobina fetal (HbF) no interfirieron con la prueba en su capacidad para detectar HbS o HbC y estas son detectables aun en concentraciones tan bajas como del 1 – 2 %. También se puede usar sangre seca y muestras almacenadas a 37°C, sin pérdida de la sensibilidad o especificidad.

El *Sickle SCAN*TM es un inmunoensayo cromatográfico tipo sándwich, con un anticuerpo monoclonal (AcM) de ratón conjugado con nanopartículas coloreadas de azul y dirigido contra la porción C-terminal de la cadena α de la Hb que se emplea como detector; además se usan como anticuerpos de captura tres antiseros policlonales contra la secuencia aminoacídica N-terminal de las moléculas de HbS, HbC y HbA, respectivamente. Como control se usa un anticuerpo anti-IgG (cadenas pesadas y ligeras) de ratón, obtenido en cabras. La muestra difunde a través de la tira de papel absorbente y el AcM con las nanopartículas colorimétricas se enlaza a la Hb formando un complejo antígeno-anticuerpo, luego continúa migrando hasta encontrarse con los anticuerpos específicos para detectar de forma selectiva cada una de las Hb y dar lugar a las tres líneas de precipitación de color azul. El exceso de AcM conjugado continuará migrando hasta llegar a la línea de control del proceso y la lectura es a simple vista (Figura). Permite detectar la presencia de HbA, diagnosticar el portador AS y las personas con Hb/SS y Hb/SC. La prueba no está diseñada para identificar otros tipos de Hb menos comunes, por lo que un resultado indicativo solo de HbA cuando hay sospecha clínica de variantes raras no es diagnóstico y se requieren otras pruebas¹⁰ lo que limita la utilidad del sistema. No obstante, la AD es la forma más frecuente de drepanocitosis en EEUU, Cuba y África Subsahariana y son los pacientes que más sufren y requieren de asistencia sanitaria³. Tampoco constituye una prueba diagnóstica de AD en recién nacidos con menos de 24 horas ya que siempre son necesarias otras pruebas confirmatorias. Los autores definen al sistema como un medio simple, rápido y robusto, con alta sensibilidad y especificidad para la detección de HbA, HbS y HbC en sólo 5 min, con muestras de sangre, tanto líquidas como secas, lo que permitiría su empleo en el monitoreo de pacientes y en los

programas de prevención y control de la AD, que ya obtuvo registro de marca en la Unión Europea¹², pero aun no en los EEUU.

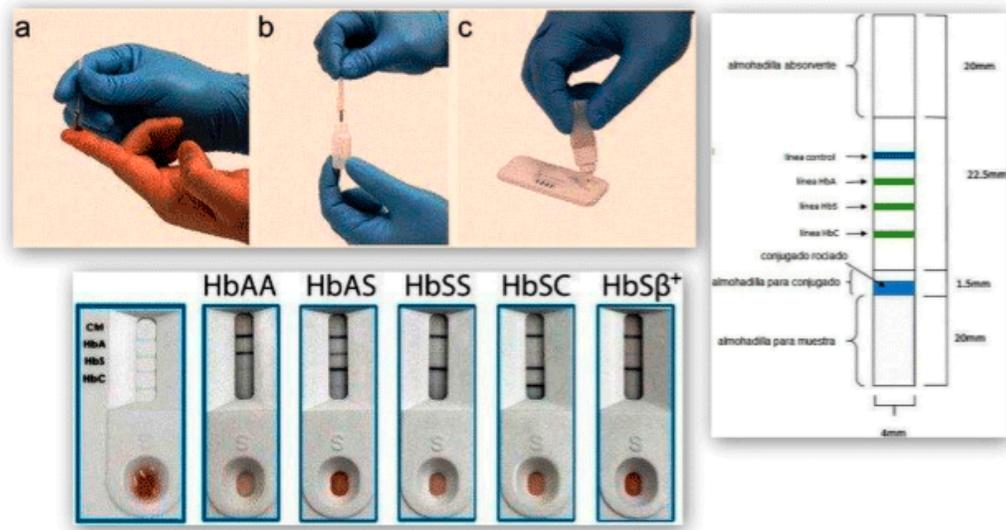


Fig. Imagen que muestra el procedimiento y los resultados del dispositivo de diagnóstico *Sickle SCAN*TM. Tomado y adaptado de: Kanter J, et al. BMC Medicine 2015;13:225⁽¹⁰⁾.

Este tipo de diagnosticador constituye un reto para la industria biotecnológica cubana y una mayor cooperación entre EEUU y Cuba permitiría evaluar *Sickle SCAN*TM en el terreno cubano, en escenarios como el Programa de Atención Integral al paciente con AD que lidera el Instituto de Hematología e Inmunología y el Programa de Prevención del Centro Nacional de Genética Médica, en las instalaciones sanitarias, laboratorios y con la aptitud del personal del Sistema Nacional de Salud, donde la voluntad política nunca ha faltado para satisfacer y mejorar la calidad de vida de la población.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Svarch E, Marcheco-Teruel B, Machín-García S, Menéndez-Veitía A, Nordet-Carrera I, Arencibia-Núñez A, et al. La drepanocitosis en Cuba. Estudio en niños. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter. 2011; 27(1):51-67.
2. Williams TN, Weatherall DJ. World distribution, population genetics, and health burden of the hemoglobinopathies. Cold Spring Harb Perspect Med. 2012; 2(9):a011692.
3. Rees DC, Williams TN, Gladwin MT. Sickle-cell disease. Lancet. 2010; 376:2018–31.
4. McGann PT. Sickle cell anemia: an underappreciated and unaddressed contributor to global childhood mortality. J Pediatr. 2014; 165(1):18-22.
5. Ware RE. Is sickle cell anemia a neglected tropical disease? PLoS Negl Trop Dis. 2013; 7(5):e2120.

6. Kumar AA, Chunda-Liyoka C, Hennek JW, Mantina H, Lee SYR, et al. Evaluation of a Density-Based Rapid Diagnostic Test for Sickle Cell Disease in a Clinical Setting in Zambia. PLoS ONE. 2014; 9(12): e114540.
7. Yang X, Kanter J, Piety NZ, Benton MS, Vignes SM, Shevkoplyas SS. A simple, rapid, low-cost diagnostic test for sickle cell disease. Lab Chip. 2013; 13(8):1464-7.
8. Piety NZ, Yang X, Lezzar D, George A, Shevkoplyas SS. A rapid paper-based test for quantifying sickle hemoglobin in blood samples from patients with sickle cell disease. Am J Hematol. 2015; 90(6):478-82.
9. McGann PT, Schaefer BA, Paniagua M, Howard TA, Ware RE. Characteristics of a rapid, point-of-care lateral flow immunoassay for the diagnosis of sickle cell disease. Am J Hematol. 2015. doi: 10.1002/ajh.24232.
10. Kanter J, Telen MJ, Hoppe C, Roberts CL, Jason S. Kim JS, et al. Validation of a novel point of care testing device for sickle cell disease. BMC Medicine 2015; 13:225.

DrC. René A Rivero-Jiménez.
Instituto de Hematología e Inmunología. Apartado 8070, La Habana, CP 10800,
CUBA.

Recibido: diciembre 01, 2015.
Aceptado: diciembre 18, 2015.