

Nuevos aspectos moleculares y fisiopatológicos de la anemia drepanocítica

New molecular and pathophysiological aspects of sickle cell anemia

Gilberto Soler Noda^{1*} <http://orcid.org/0000-0002-1156-2143>

Lilia Zenaida Escalona Muñoz² <http://orcid.org/0000-0002-0820-9541>

Kirenia Peña Leyva³ <http://orcid.org/0000-0002-9338-9654>

¹Instituto de Hematología e Inmunología. La Habana. Cuba.

²Hospital Pediátrico Docente "William Soler". La Habana. Cuba.

³Universidad de Ciencias Médicas de La Habana, Facultad de Tecnología de la Salud. La Habana. Cuba.

*Autor para la correspondencia: gsolern@infomed.sld.cu

RESUMEN

Introducción: La enfermedad por hemoglobina S es una anemia hemolítica crónica hereditaria cuyas manifestaciones clínicas provienen de la tendencia de esta hemoglobina de polimerizar y deformar los eritrocitos dándoles la típica forma de media luna, platanito, drepanocitos o "sickle cell"; de aquí el nombre de anemia drepanocítica o sickleemia.

Objetivo: Describir los nuevos aspectos moleculares, fisiopatológicos y el diagnóstico de la anemia drepanocítica.

Métodos: Se realizó una revisión de la literatura, en inglés y español, a través del sitio web PubMed y el motor de búsqueda Google académico de artículos publicados en los últimos 10 años. Se hizo un análisis y resumen de la bibliografía revisada.

Conclusiones: La comprensión de la complejidad y multiplicidad de eventos que conducen a complicaciones graves en la anemia drepanocítica y nuestra incapacidad para predecir el curso clínico en cada caso particular ayudaría en la prevención de estos eventos.

Palabras claves: hemoglobinopatías; HbS; anemia drepanocítica; sickleemia; hemoglobinas anormales.

ABSTRACT

Introduction: Hemoglobin S disease is a hereditary chronic hemolytic anemia whose clinical manifestations come from the tendency of this hemoglobin to polymerize and deform erythrocytes, giving the typical crescent, banana, sickle cell or "sickle cell" shape; hence the name sickle cell anemia or sickleemia.

Objective: To describe the new molecular and pathophysiological aspects and the diagnosis of sickle cell anemia.

Methods: A literature review was carried out, in English and Spanish, through PubMed website and Google academic search engine for articles published in the last 10 years. An analysis and summary of the revised bibliography was made.

Conclusions: Understanding the complexity and multiplicity of events that lead to serious complications in sickle cell anemia and our inability to predict the clinical course in each particular case would help preventing these events.

Keywords: hemoglobinopathies; HbS; Sickle-cell anaemia; sickleemia; abnormal hemoglobins.

Recibido: 18/09/2020

Aprobado: 25/09/2020

Introducción

La enfermedad por hemoglobina S (HbS) es una anemia hemolítica crónica hereditaria cuyas manifestaciones clínicas provienen de la tendencia de la HbS de polimerizar y deformar los eritrocitos dándoles la forma típica de media luna, platanito, drepanocitos o "sickle cell"; de aquí el nombre de anemia drepanocítica (AD) o sicklemlia.⁽¹⁾

La mayor incidencia de AD corresponde a África tropical, donde 45 % de la población es portadora de la mutación. El gen β^S presenta tres haplotipos prevalentes: Benin, Senegal y Bantú, presentes también en la población negra de Estados Unidos y Jamaica. Los haplotipos Benin y Senegal son prevalentes en la población norteafricana y litoral mediterráneo, en especial, Grecia; Italia y parte de la península Ibérica, lo que pone de manifiesto la expansión de población africana en estas áreas de poblaciones blancas. En América Latina y Caribe, 1 de cada 100 individuos de piel negra es portador del gen β .⁽²⁾

Esta hemoglobinopatía es frecuente en personas con antepasados originarios del África subsahariana, la India, Arabia Saudita o los países del Mediterráneo. Las migraciones incrementaron la frecuencia del gen en el continente americano. En algunas zonas del África subsahariana, el porcentaje de niños que nacen con este trastorno puede llegar al 2 %. La prevalencia del rasgo drepanocítico (portadores sanos que han heredado el gen mutante solamente de uno de los progenitores) oscila entre el 10-40 % en África ecuatorial y disminuye al 1-2 % en la costa norte, y a menos de 1 % en Sudáfrica. Esta distribución se debe a que el rasgo drepanocítico confiere una ventaja de supervivencia frente al paludismo, con el consiguiente aumento de la frecuencia del gen mutante en las zonas con elevada transmisión del paludismo.⁽³⁾

Teniendo en cuenta el alto grado de mestizaje de la población cubana; que la HbS es la hemoglobinopatía más frecuente en nuestro país y que su amplio espectro de complicaciones e interacciones pueden constituir una emergencia médica; el objetivo de esta investigación fue describir los nuevos aspectos moleculares, fisiopatológicos y el diagnóstico de la anemia drepanocítica y los síndromes asociados. Una mejor comprensión de este defecto requiere de conocimientos genéticos y bioquímicos por lo que este puede ser un material docente útil en la formación del personal médico y paramédico de nuestro país.

Métodos

Se realizó una revisión de la literatura, en inglés y español, a través de los sitios web PubMed, Science Direct, Scielo y el motor de búsqueda Google académico de artículos publicados en los últimos 10 años sobre HbS y anemia drepanocítica. El 72,4 % de los trabajos seleccionados fueron artículos originales y de revisión publicados entre los años 2015-2019. Se realizó un análisis y resumen de la bibliografía y se tomaron los aspectos más importantes referidos al tema.

Fisiopatología

Bases moleculares de la drepanocitosis

La molécula de Hb contiene dos cadenas β en forma de tetrámero. Cada cadena tiene una molécula de heme que une oxígeno. Cuando no tiene oxígeno, la molécula está tensa; cuando este se une, la estructura proteica cambia y ese cambio es transmitido a las otras moléculas, permitiéndole a las otras cadenas unir oxígeno más rápidamente. Este es el estado relajado y es un proceso reversible.

La HbS se produce por la sustitución de simples nucleótidos (adenina → timina) en el exón 1 del gen β -globina, lo cual provoca la sustitución en la cadena β -globínica del ácido glutámico por valina en la posición 6 ($\beta^{\text{Glu}} \rightarrow \text{val}$ o β^{S}). Esto permite interacciones hidrofóbicas anormales entre cadenas adyacentes cuando la molécula se desoxigena, decreciendo su solubilidad. Este cambio ocasiona que la HbS polimerice cuando se desoxigena ya que la valina puede encajar en los bolsillos hidrofóbicos formados por la fenilalanina 85 y leucina 88 de una de las cadenas β adyacentes. La polimerización de la Hb desoxigenada es el evento primario indispensable en la patogenia de la enfermedad y depende de la concentración de la HbS intraeritrocitaria, del grado de desoxigenación, pH, temperatura y de la concentración intracelular de HbF.⁽¹⁾

El polímero es un haz de fibras alineadas, formado por un paquete de 14 pares de cadenas de Hb enrolladas una alrededor de la otra (paracrístales) en una forma definida, distorsionando el eritrocito y aumentando la viscosidad interna, interfiriendo con la deformabilidad del eritrocito.^(4,5)

Existe un tiempo de retardo durante el cual no se detecta la polimerización y posteriormente, se inicia la llamada nucleación donde se forman los núcleos críticos y la polimerización exponencial continua. La cinética de la reacción tiene un rol crítico en la reología y morfología de los eritrocitos circulantes. El tiempo de tránsito en la microcirculación es relativamente corto en relación con el rango de los tiempos de retardo, y las células SS fallan al sufrir la polimerización. El retardo en la formación de los paracrístales hace que la sangre fluya. Si aumenta su tiempo de tránsito, entonces las células SS se equilibran a baja tensión de O_2 , y podrían contener polímeros de HbS y hacerse menos deformables y más densas.⁽⁶⁾

Se pensaba que la causa de obstrucción capilar era la falta de deformabilidad del eritrocito durante el tránsito capilar, provocando las crisis vasclusivas. El mecanismo actual es más complejo que lo esperado. El evento primario incluye la adhesión de los eritrocitos (reticulocitos y células densas) al endotelio venoso poscapilar. La adhesión endotelial de leucocitos con formación de agregados heterocelulares (leucocitos y células falciformes irreversibles) también contribuye a la obstrucción, resultando en hipoxia local, incremento de la polimerización y prolongación de la oclusión a la vasculatura adyacente. La transmigración de los leucocitos a través de las uniones endoteliales añade un incremento inflamatorio. Últimamente se le ha dado importancia a la desregulación del tono vasomotor, por perturbación de mediadores vasodilatadores como el óxido nítrico (ON). La obstrucción conlleva a que se active la coagulación con formación de fibrina que rodea el cúmulo celular, la cual está asociada a la disfunción de la membrana lipídica observada en estas células, que induce a la expresión anormal de fosfatidilserina sobre ella.⁽⁷⁾

El proceso de desdrepanocitosis (en el cual los paracrístales se desarreglan y las células adquieren una apariencia y viscosidad normal) es más rápido, porque los polímeros colocados en forma paralela se rompen en lo que la molécula se oxigena. De esta manera cuando las células entran en el pulmón, deben estar polimerizadas antes de pasar por la microcirculación. Al primer “soplo” de oxígeno, las células se despolimerizan y pasan sin ser problema.⁽⁸⁾

Cuando el proceso de formación y disolución de paracrístales se hace prolongado o repetitivo, el citoesqueleto se altera en forma permanente y se hacen más propensos al secuestro y a fenómenos obstructivos. Las células se hacen más densas, hay pérdida de agua y cationes y el proceso se hace irreversible. Por otra parte, hay aumento de moléculas de IgG en la membrana que podrían jugar un papel en la destrucción prematura.⁽⁹⁾

Las alteraciones patológicas son producto de la anemia, infecciones, daño orgánico agudo reversible y daño crónico irreversible. Las manifestaciones comienzan en la infancia, luego se pasa por una etapa poco sintomática en la adolescencia y luego en la etapa de adulto joven se incrementa el daño orgánico.

Efecto en los eritrocitos

Los eritrocitos adquieren la forma alargada típica del drepanocito en el proceso de desoxigenación como resultado de la polimerización de la HbS, fenómeno que es reversible en la reoxigenación. Sin embargo, la presencia de polímeros HbS reduce la deformabilidad con aumento de la

viscosidad de la sangre. El "sicklismo" prolongado o repetitivo de los eritrocitos va dañando progresivamente la membrana de estos, causando salida de agua y de iones K^+ y Cl^- por la vía de Gardos conduciendo a la deshidratación de la célula, aumentando la concentración intracelular de Hb (células densas) y disminuyendo el tiempo en la formación de los polímeros HbS.⁽¹⁾

La segunda consecuencia importante es el daño a la membrana con perturbación en la organización de los lípidos con exposición de fosfatidilserina cargada negativamente en la superficie de la célula siendo su localización normal la monocapa interna. Los eritrocitos se vuelven anormalmente adherentes al endotelio vascular vía moléculas de adhesión vascular 1, trombospondina y fibronectina (fig.1).⁽¹⁰⁾

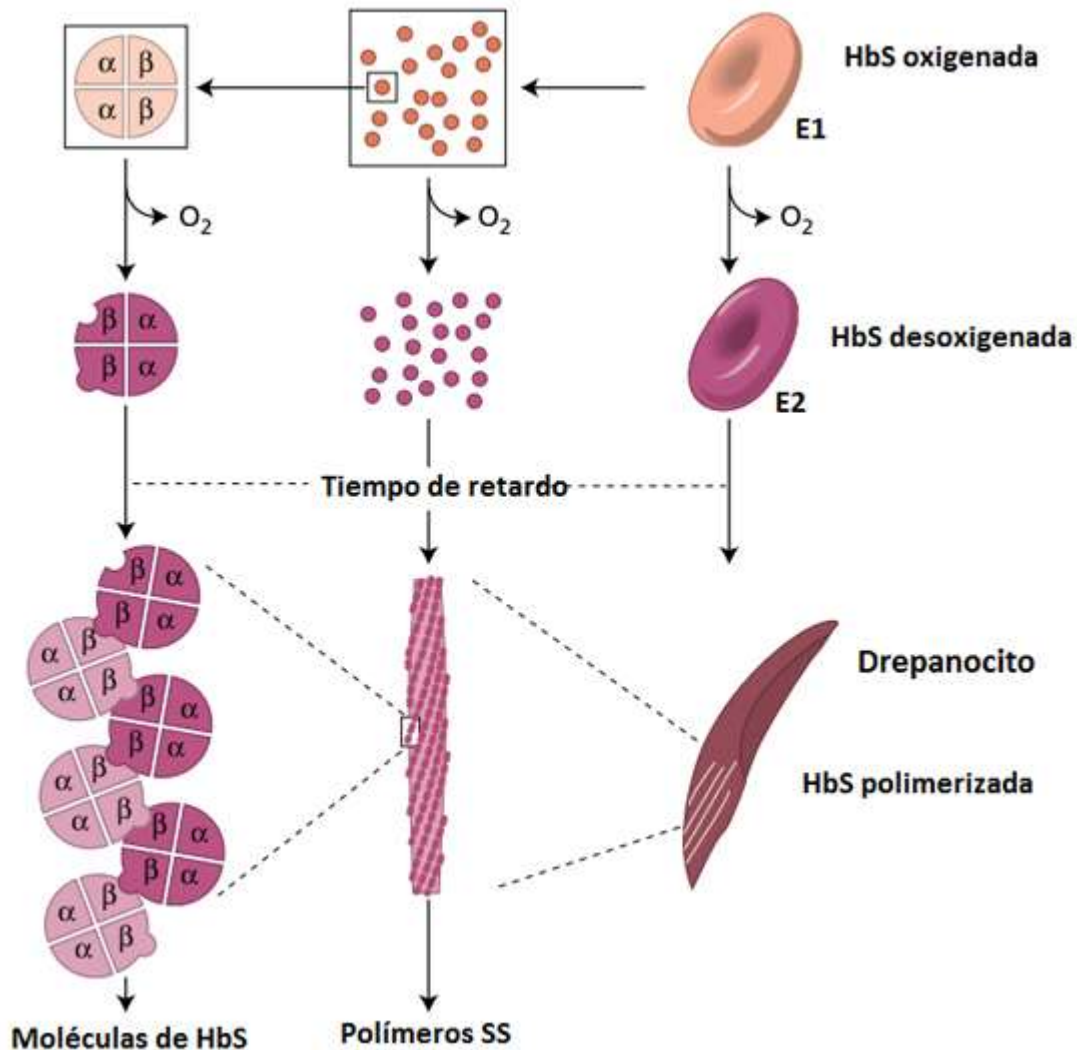
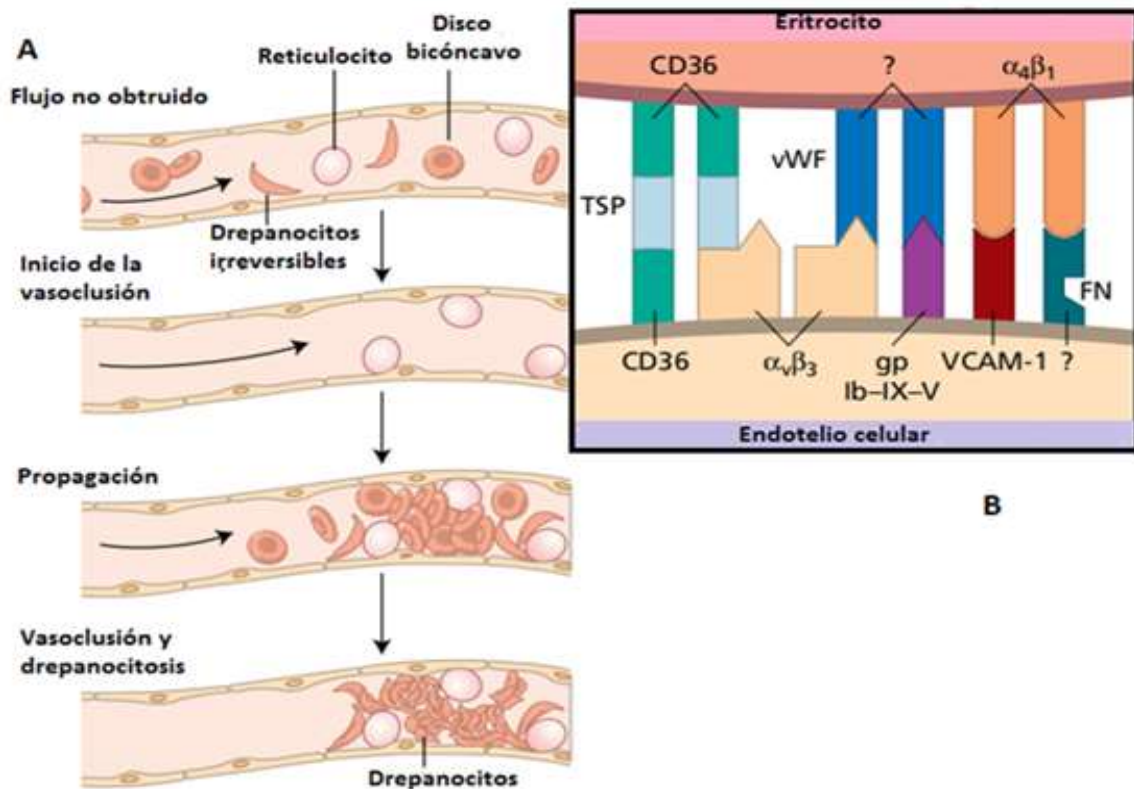


Fig. 1 - Inducción de los drepanocitos. El O_2 es liberado de la oxi-HbS (E1) generando desoxi-HbS (E2). Los cambios conformacionales exponen el bolsillo hidrofóbico en el sitio de remplazo de la valina (columna izquierda) el cual se une al sitio hidrofóbico complementario en la otra subunidad del tetrámero de Hb donde solo uno de los dos sitios β^6 -valina en cada tetrámero de HbS realiza el contacto. La columna central muestra el ensamblaje de la desoxi-HbS en una fibra helical de 14 cadenas. El tiempo de retardo es inversamente proporcional a la concentración intracelular de Hb. Los polímeros de desoxi-HbS distorsionan el eritrocito, el cual adopta la forma elongada de drepanocito o "sickle cell".⁽¹⁰⁾

Vasoclusión

Varios factores contribuyen al fenómeno vasoclusivo: el flujo sanguíneo lento producto de una anormal regulación del tono vascular como resultado de la disminuida vasodilatación mediada por ON; agravado por el aumento de la viscosidad de la sangre provocado por la disminución de la deformabilidad de los eritrocitos, fenómeno llamado reología anormal. La vasoclusión es iniciada por la adhesión de células jóvenes (deformables) al endotelio vascular seguido del atrapamiento de los rígidos drepanocitos irreversibles. La adhesión ocurre en las vénulas poscapilares y es promovida por la leucocitosis, plaquetas activadas y citocinas inflamatorias. La influencia genética modula la tendencia a la vasoclusión independientemente de la mutación debido a las variaciones fenotípicas observadas en los individuos con esta entidad (fig. 2).^(10,11)



(A) Los reticulocitos adhesivos inician la vasoclusión por su adhesión al endotelio vascular del vaso sanguíneo. Los eritrocitos poco deformables se acumulan detrás del sitio de adhesión resultando en la oclusión del segmento vascular conteniendo numerosos drepanocitos.

(B) En el eritrocito los receptores relevantes incluyen CD36 el cual se une a la trombospondina (TSP) y a la integrina $\alpha_4\beta_1$ que une fibronectina (FN) y moléculas de adhesión celular 1 (VCAM-1). En las células endoteliales los receptores incluyen CD36, integrina $\alpha_v\beta_3$, los complejos glucoproteicos Ib, IX y V (GP-Ib-IX-V) que se unen al factor von Willebrand (vWF) y VCAM-1. Los signos de interrogación señalan receptores no identificados.⁽¹⁰⁾

Fig. 2 - Adhesión endothelial y vasoclusión en la AD.

Hemólisis

La AD se caracteriza por anemias crónicas con hemólisis intra y extravascular. El "sicklismo" induce fragmentación de la membrana y lisis mediada por activación del sistema de complemento que causa destrucción intravascular de los eritrocitos. El daño a la membrana también provoca hemólisis extravascular por el atrapamiento de los eritrocitos poco deformables que son fagocitados por macrófagos. Los pacientes tienen expandido el espacio medular pero los niveles

séricos de eritropoyetina son más bajos que los esperados debido a la baja afinidad de la HbS por el O₂. Los individuos con delección concomitante de uno o ambos genes α -globínicos o con los haplotipos Senegal o Arab-India tienen altos niveles basales de Hb.⁽¹²⁾

Síndromes asociados con la anemia drepanocítica

Rasgo drepanocítico

El rasgo drepanocítico (HbAS) es una condición benigna que no presenta manifestaciones hematológicas y los pacientes tienen una vida y desarrollo normal, afectando entre el 8-10 % a los afroamericanos y entre el 25-30 % de individuos del África occidental. En electroforesis la relación HbA-HbS es de 60:40 debido a la gran afinidad de las cadenas α -globínicas por las cadenas β^A -globínicas. Los individuos con este rasgo pueden tener dañada la habilidad para concentrar la orina y pueden presentar hematuria, en mujeres embarazadas existe un incremento en la susceptibilidad a padecer infecciones del tracto urinario. Se ha reportado muerte súbita en individuos bajo entrenamiento físico intenso y de infarto esplénico en altitudes muy altas. Se aconseja brindar consejería genética en estos casos.⁽¹³⁾

Enfermedad HbS-HbC

La HbC es común en descendientes africanos y los estados heterocigóticos HbSC acontecen entre 25-50 % de los pacientes con AD. Las complicaciones vasclusivas se asemejan a los HbSS pero su presentación es menos grave. La esplenomegalia y el riesgo de secuestro perduran toda la vida. En estos pacientes se observa retinopatía proliferativa benigna durante la segunda década de vida. Los niveles de Hb se mantienen en un rango entre 100-120 g/L, mucho más alto que en los pacientes HbSS, los eritrocitos son relativamente microcíticos con alta concentración hemoglobínica corpuscular media. En sangre periférica se observan *target cells*, cristales intraeritrocíticos y escasos drepanocitos. La patogénesis involucra daño a la membrana con la consiguiente pérdida de agua y cationes e incremento en la concentración de la HbS. Al igual que los pacientes con HbSS, la prueba de solubilidad es positiva. La corrida electroforética es muy similar para HbSC, HbSE y HbSO-Arab a pH 8,4 y la distinción se realiza basada en la etnicidad y en la electroforesis a pH 6,5.⁽¹⁴⁾

HbS- β -talasemia

El estado heterocigótico HbS- β -talasemia ocurre en menos de 10 % de los pacientes con síndromes drepanocíticos. La mayoría presentan el fenotipo β^+ y una proporción de HbA entre 3-25 %. La presentación clínica es ligera y se correlaciona con la presencia de la HbA. Menos frecuente es el fenotipo HbS- β^0 pero su presentación clínica es tan grave como las formas HbSS. Los eritrocitos son microcíticos e hipocrómicos, en periferia se observan numerosos *target cells* y drepanocitos, reticulocitos entre 10-20 % y altos niveles de HbA₂.⁽¹⁵⁾

HbS- α -talasemia

La herencia concomitante de α -talasemia ($-\alpha/\alpha\alpha$ o $-\alpha/-\alpha$) con la AD es común y los pacientes presentan una anemia, hipocromía y microcitosis menos grave. La gravedad clínica es similar a la observada en pacientes HbSS con un complemento normal de genes α -globínicos.⁽¹⁶⁾

HbS-hemoglobina fetal hereditaria persistente (HFHP)

Aproximadamente 1 de cada 100 pacientes con HbSS presenta elevados niveles de HbF por mutaciones delecionales o no delecionales que mantienen la expresión del gen γ -globínico después del nacimiento. Tales individuos tienen entre 20-30 % de HbF y menos de 2,5 % de HbA₂. Los niveles de Hb son normales con microcitosis, y *target cells* observados en periferia. El curso clínico es benigno y las complicaciones vasclusivas son muy raras debido a la inhibición de la precipitación de la HbS por los niveles elevados de HbF.^(17,18)

HbS-Hb"Lepore"

La herencia conjunta de Hb"Lepore" con HbS produce un cuadro clínico similar al observado en la S- β -talasemia pero con niveles bajos de HbA₂.⁽¹⁹⁾

HbS-HbD

En los individuos heterocigóticos para la HbS y la HbD o HbG se produce una anemia hemolítica moderadamente grave con *target cells* y drepanocitos irreversibles en sangre periférica y las manifestaciones clínicas son similares a una AD ligera.⁽²⁰⁾

HbS-HbO"Arab"

La HbO"Arab" es similar a la HbC en electroforesis alcalina y produce anemias hemolíticas moderadamente graves en asociación con la HbS. La enfermedad es más grave que la HbSC y en sangre periférica se observan numerosos drepanocitos.⁽²¹⁾

HbS-HbE

La enfermedad por HbSE causa hemólisis ligera sin marcadas anomalías morfológicas en los eritrocitos. La HbE se encuentra solo en 30 % del total de la Hb por la naturaleza talasémica de la mutación. Los pacientes generalmente son asintomáticos pero se ha observado de forma ocasional complicaciones vasoclusivas y anemia grave.⁽²²⁾

Diagnóstico de laboratorio

Hallazgos en sangre periférica

El cuadro hematológico en sangre periférica depende del tipo de síndrome drepanocítico del que se trate. Los niveles de Hb son normales en el período neonatal, pero la anemia se comienza a establecer entre el 3er y 4to mes de vida cuando empieza a declinar la HbF observándose en periferia drepanocitos irreversibles y eritrocitos semejantes a "tabaquillos". En la enfermedad por HbSS los eritrocitos son normocíticos y normocrómicos con policromatofilia, muchos drepanocitos irreversibles y algunos *target cells*. Los conteos de reticulocitos se encuentran entre 10-20 % y son observados normoblastos. Los eritrocitos son microcíticos en presencia de α -talasemia o con deficiencia de hierro. En la HbS- β -talasemia son prominentes los drepanocitos irreversibles, *target cells* y eritrocitos microcíticos e hipocrómicos. La morfología de los eritrocitos en la HbSC se caracteriza por el predominio de *target cells* y raros drepanocitos irreversibles. De forma ocasional se observan corpúsculos de Howell-Jolly indicativos de la disminución de la función esplénica. Los leucocitos se encuentran elevados ($12-20 \times 10^9/L$) producto de la maduración de los neutrófilos al igual que los conteos plaquetarios ($300-500 \times 10^9/L$) causado por la afección esplénica.⁽²³⁾

Otros hallazgos

La medida de los factores de la coagulación en la anemia drepanocítica son indicativos de ligera activación del sistema. La velocidad de sedimentación globular es consistentemente baja. Los niveles séricos de bilirrubina no conjugada y de lactato deshidrogenasa son elevados y la haptoglobina muy deprimida.⁽²⁴⁾

Electroforesis de Hb

La HbS puede ser identificada en electroforesis en acetato de celulosa a pH 8,4. Aunque las Hb D y G tienen la misma movilidad electroforética con este método, puede ser diferenciada con el empleo de la electroforesis en agar citrato a pH 6,2 o en foco isoeléctrico de capa fina. Con electroforesis no se puede distinguir entre la HbSS y la HbS- β^0 -talasemia. El diagnóstico de S- β^0 -talasemia es sugerido por la microcitosis y elevados niveles de HbA₂, y confirmado por el hallazgo del rasgo β -talasémico en uno de los padres. La HbA y la HbS es observada tanto en los HbAS como en el HbS- β^+ -talasémicos, pero en el primero se encuentra alrededor de 50 % mientras que en el segundo se encuentran entre 5-30 %. Los niveles de HbF son variablemente elevados con niveles altos observados en los haplotipos Arab-Indian y Senegal.^(25,26)

Otros ensayos para detectar la HbS

Los drepanocitos pueden ser inducidos cubriendo una gota de sangre con una lámina cubreobjeto y sellándolo para excluir el O₂ o por adición de una gota de metabisulfito de sodio al 2 %. La prueba de solubilidad para la HbS emplea un agente reductor para hemolizar los eritrocitos. La desoxi-HbS es insoluble y tiende a enturbiar la solución. Ambos ensayos son inútiles para distinguir el rasgo HbAS de la HbSS y no son empleados para realizar el diagnóstico primario.⁽²⁷⁾ Son útiles para

ayudar en la identificación de bandas electroforéticas anormales como la HbS y para la identificación del rasgo HbAS en las unidades de concentrados de eritrocitos para transfundir.

Diagnóstico prenatal

El diagnóstico prenatal está dirigido en la detección de la mutación GAG→ GTG en células fetales responsable de la enfermedad por anemia drepanocítica. La consejería genética es difícil debido a la marcada variabilidad en las manifestaciones clínicas dentro del mismo genotipo y la habilidad para predecir el fenotipo individual. El diagnóstico de preimplantación y selección de embriones saludables ofrece una solución pero no está exento de problemas éticos.^(27,28)

Diagnóstico neonatal

El diagnóstico neonatal es recomendado para identificar la enfermedad por anemia drepanocítica en el período neonatal. La muestra de sangre obtenida por punción capilar en el talón es recogida en papel de filtro y examinadas por electroforesis o cromatografía. Los neonatos con HbSS y HbS-β⁰-talasemia tienen un patrón FS (indicativo de la relativa abundancia en la muestra). En el rasgo drepanocítico el patrón de Hb es FAS, mientras que en recién nacidos con HbS-β⁺-talasemia el patrón es FSA. La presencia de un patrón FSC sugiere enfermedad por HbSC. Los estudios familiares permiten realizar el diagnóstico definitivo; cuando los padres no están presentes el medio diagnóstico de elección son los ensayos moleculares.⁽²⁹⁾

En esencia, dada la complejidad y multiplicidad de eventos que conducen a complicaciones graves en la AD y nuestra incapacidad para predecir el curso clínico en cada caso particular; la comprensión creciente, pero aún inadecuada, de la fisiopatología, ayudaría en la prevención de estos eventos con la ayuda de pacientes y familiares. El diagnóstico rápido y certero de estas complicaciones en nuestros servicios de urgencia resultaría en una mejor atención, que se traduce en mejor calidad de vida de nuestros pacientes.

Referencias bibliográficas

1. Kato GJ, Piel FB, Reid CD, Gaston MH, Ohene-Frempong K, Krishnamurti L, *et al.* Sickle cell disease. *Nature Reviews Disease Primers*. 2018;4:18010.
2. Chakravorty S, Williams TN. Sickle cell disease: a neglected chronic disease of increasing global health importance. *Arch Dis Child*. 2015;100:48-53. <http://doi.org/10.1136/archdischild-2013-303773>
3. Piel FB, Patil AP, Howes RE, Nyangiri OA, Gething PW, Williams TN. *et al.* Global distribution of the sickle cell gene and geographical confirmation of the malaria hypothesis. *Nature communications*. 2010;1:104. <http://doi.org/10.1038/ncomms1104>
4. Kato GJ. New Insights into Sickle Cell Disease: Mechanisms and Investigational Therapies. *Current opinion in hematology*. 2016;23(3):224-32. <http://doi.org/10.1097/MOH.0000000000000241>
5. Das R, Mitra A, Mitra G, Maity D, Bhat V, Pal D, *et al.* Molecular insights of inhibition in sickle hemoglobin polymerization upon glutathionylation: hydrogen/deuterium exchange mass spectrometry and molecular dynamics simulation based approach. *Biochemical Journal*. 2018; BCJ20180306. <http://doi.org/10.1042/BCJ20180306>
6. Eaton WA, Bunn HF. Treating sickle cell disease by targeting HbS polymerization. *Blood*. 2017; blood-2017-02-765891. <http://doi.org/10.1182/blood-2017-02-765891>
7. Piel FB, Steinberg MH, Rees DC. Sickle Cell Disease. *N Engl J Med*. 2017;376:1561-73. <http://doi.org/10.1056/NEJMra1510865>
8. Esin AL, Bergendahl LLT, Savolainen V, Marsh J, Warnecke T. The genetic basis and evolution of red blood cell sickling in deer. *Nature Ecology & Evolution*. 2018;2:367-76. <http://doi.org/10.1038/s41559-017-0420-3>
9. Garneau AP, Marcoux AA, Frenette-Cotton R, Mac-Way F, Lavoie JL, Isenring P. Molecular insights into the normal operation, regulation, and multisystemic roles of K⁺-Cl⁻-cotransporter 3

- (KCC3). American Journal of Physiology. 2017;3131(5):516-32. <http://doi.org/10.1152/ajpcell.00106.2017>
10. Postgraduate Haematology, Fifth Edition. Edited by A. Victor Hoffbrand, Daniel Catovsky, Edward G.D. Tuddenham. Copyright © 2005 Blackwell Publishing Ltd, 9600 Garsington Road, Oxford OX4 2DQ, UK.
11. Heeney MM, Hoppe CC, Abboud MR, Inusa B, Kanter J, Ogutu B, *et al.* A Multinational Trial of Prasugrel for Sickle Cell Vaso-Occlusive Events. *New England Journal of Medicine*. 2016[acceso: 15/05/2020];374(7):625-35. Disponible en: <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1512021>
12. Kato GJ, Steinberg MH, Gladwin MT. Intravascular hemolysis and the pathophysiology of sickle cell disease. *J Clin Invest*. 2017;127(3):750-60. <http://doi.org/10.1172/JCI89741>
13. Nayar S, Acharya S, Acharya R, Kishore S, Thakur B. Spectrum of Haemoglobinopathies: A Hospital Based Study in Uttarakhand. *Journal Of Clinical & Diagnostic Research*. 2017;11(12):18-21. <http://doi.org/10.7860/JCDR/2017/31731.10947>
14. Garnier Y, Ferdinand S, Etienne-Julan M, Elana G, Petras M, Doumou L, *et al.* Differences of microparticle patterns between sickle cell anemia and hemoglobin SC patients. *PLoS ONE*. 2017;12(5):0177397. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0177397>
15. Lin MI, Paik E, Mishra B, Burkhardt D, Kernysky A, Pettiglio M, *et al.* CRISPR/Cas9 Genome Editing to Treat Sickle Cell Disease and β -Thalassemia: Re-Creating Genetic Variants to Upregulate Fetal Hemoglobin Appear Well-Tolerated, Effective and Durable. *Blood*. 2017[acceso: 15/05/2020];130(S1):284. Disponible en: http://www.bloodjournal.org/content/130/Suppl_1/284
16. Opi DH, Ochola LB, Tendwa M, Siddondo BR, Ocholla H, Fanjo H, *et al.* Mechanistic studies of the negative epistatic malaria-protective interaction between sickle cell trait and α -thalassaemia. *EBio Medicine*. 2014;1(1):29-36. <http://doi.org/10.1016/j.ebiom.2014.10.006>
17. Rivera-Paz EE, Espinal-Palacios AG, Palencia EP, Hernández AP. Anemia de células falciformes con persistencia de hemoglobina fetal como factor protector: reporte de caso. *Rev Mex Pediatr*. 2016;82(2):55-9.
18. Lin MI, Paik EJ, Mishra BP, Chou S, Zhang Y, Tomkinson K, *et al.* Re-Creating Hereditary Persistence of Fetal Hemoglobin (HPFH) to Treat Sickle Cell Disease (SCD) and β -Thalassemia. *Blood*. 2016[acceso: 15/05/2020];128(22):4708. Disponible en: <http://www.bloodjournal.org/content/128/22/4708>
19. Paglietti ME, Satta S, Sollaino MC, Barella S, Ventrella A, Desogus MF, *et al.* The Problem of Borderline Hemoglobin A2 Levels in the Screening for β -Thalassemia Carriers in Sardinia. *Acta Haematol*. 2016;135:193-9.
20. Italia K, Upadhye D, Dabke P, Kangane H, Colaco S, Sawant P, *et al.* Clinical and hematological presentation among indian patients with common hemoglobin variants. *Clinica Quimica Acta*. 2014;431:46-51. <http://doi.org/10.1016/j.cca.2014.01.028>
21. Bezirgiannidou Z, Christoforidou A, Kontekaki E, Anastasiadis AG, Papamichos SI, Menexidou H, *et al.* Hyperhemolytic Syndrome Complicating a Delayed Hemolytic Transfusion Reaction due to anti-P1 Alloimmunization, in a Pregnant Woman with HbO-Arab/ β -Thalassemia. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*. 2016;8(1):e2016053. <http://doi.org/10.4084/MJHID.2016.053>
22. Chotivanich K, Udomsangpetch R, Pattanapanyasat K, Chierakul W, Simpson J, Looareesuwan S, *et al.* Hemoglobin E: a balanced polymorphism protective against high parasitemias and thus severe *P. falciparum* malaria. *Blood*. 2002[acceso: 15/05/2020];100(4):1172-6. Disponible en: <http://www.bloodjournal.org/content/100/4/1172>
23. Erramouspe B, Eandi Eberle SJ. Conventional techniques applied to the diagnosis of hemoglobinopathies. *Acta bioquím clín latinoam*. 2017[acceso: 15/05/2020];51(3):325-32. Disponible en: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572017000300007&lng=es

24. Noubouossie D, NS Key, Ataga KI. Coagulation abnormalities of sickle cell disease: Relationship with clinical outcomes and the effect of disease modifying therapies. *Blood Review*. 2016;30(4):245-56. <http://doi.org/10.1016/j.blre.2015.12.003>
25. Yoon CS, Tan YM, Law HY. AB091. Comparison of two haemoglobin electrophoresis platforms for the detection of haemoglobinopathies. *Annals of Translational Medicine*. 2017;5(S2):AB091. <http://doi.org/10.21037/atm.2017.s091>
26. Begum K, Mannan MA, Sanyal M, Hosen I, Chakraborty S, Shekhar H. Molecular Diagnostic Approach Prevails Superior Over Conventional Gel-Electrophoresis Method in Detecting Sickle Cell Anemia. *J Mol Biomark Diagn*. 2018;9:382. <http://doi.org/10.4172/2155-9929.1000382>
27. McGann PT, Hoppe C. The pressing need for point-of-care diagnostic for sickle cell disease: A review of current and future technologies. *Blood Cells Molecules and Diseases*. 2017;67:104-13. <http://doi.org/10.1016/j.bcmed.2017.08.010>
28. 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. *European Journal of Human Genetics*. 2015;23:426-37. <http://doi.org/10.1038/ejhg.2014.131>
29. Camilo-Araújo RF, Silverio Amancio OM, Figueiredo MS, Cabanãs-Pedro AC, Pellegrini Braga JA. Molecular analysis and association with clinical and laboratory manifestations in children with sickle cell anemia. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2014;36(5): 334-9. <http://doi.org/10.1016/j.bjhh.2014.06.002>

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

Contribuciones de los autores

Gilberto Soler Noda: Concepción y diseño del trabajo, obtención, análisis e interpretación de datos, redacción y corrección del manuscrito en su versión final. Aprobó la última versión presentada.

Lilia Zenaida Escalona Muñoz: Análisis e interpretación de datos, y corrección del manuscrito en su versión final.

Kirenia Peña Leyva: Redacción y la corrección del manuscrito en su versión final.