




## Hemoglobina Denver, una causa de desaturación en oximetría de pulso. Reporte de caso en un paciente pediátrico

Estefanía Rossetti<sup>a</sup> , Silvia Eandi Eberle<sup>b</sup>, Fernando Aguirre<sup>b</sup>, Carolina Pepe<sup>c</sup>, Lilian Díaz<sup>a</sup>, Verónica Harris<sup>d</sup>, Vanesa Ávalos<sup>a</sup>

### RESUMEN

Las hemoglobinopatías son trastornos genéticos que afectan a la molécula de hemoglobina (Hb). Las mutaciones en las cadenas  $\alpha$  o  $\beta$  que alteran el tetrámero de Hb pueden modificar la capacidad de la molécula para unirse al oxígeno. Las hemoglobinopatías con baja afinidad al oxígeno pueden presentarse con cianosis y una lectura alterada de la oximetría de pulso, lo que lleva a pruebas innecesarias y, a veces, invasivas para descartar afecciones cardiovasculares y respiratorias.

En el siguiente reporte de caso, presentamos a una paciente pediátrica, asintomática, que se presentó a la consulta por detección de desaturación en oximetría de pulso. Las pruebas de laboratorio iniciales mostraron una anemia normocítica, normocrómica. Las muestras de gas venoso demostraron una p50 elevada. Después de extensas herramientas de diagnóstico, se diagnosticó una variante de Hb con baja afinidad al oxígeno, Hb Denver.

**Palabras clave:** hemoglobinas anormales; hemoglobina Denver; monitoreo de gas sanguíneo transcutáneo.

doi (español): <http://dx.doi.org/10.5546/aap.2022-02801>

doi (inglés): <http://dx.doi.org/10.5546/aap.2022-02801.eng>

**Cómo citar:** Rossetti E, Eandi Eberle S, Aguirre F, Pepe C, et al. Hemoglobina Denver, una causa de desaturación en oximetría de pulso. Reporte de caso en un paciente pediátrico. *Arch Argent Pediatr* 2023;121(5):e202202801.

<sup>a</sup> Departamento de Hematología y Oncología; <sup>b</sup> Laboratorio de Hematología; <sup>c</sup> Laboratorio de Biología Molecular;

<sup>d</sup> Clínica de Cuidados Intermedios y Moderados; Hospital de Pediatría S.A.M.I.C. Prof. Dr. Juan P. Garrahan, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

**Correspondencia para Estefanía Rossetti:** [estefania.rossetti86@gmail.com](mailto:estefania.rossetti86@gmail.com)

**Financiamiento:** ninguno.

**Conflicto de intereses:** ninguno que declarar.

**Recibido:** 30-7-2022

**Aceptado:** 23-11-2022



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Atribución-No Comercial-Sin Obra Derivada 4.0 Internacional. Atribución — Permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra. A cambio se debe reconocer y citar al autor original. No Comercial — Esta obra no puede ser utilizada con finalidades comerciales, a menos que se obtenga el permiso. Sin Obra Derivada — Si remezcla, transforma o crea a partir del material, no puede difundir el material modificado.

## INTRODUCCIÓN

La hemoglobina A (HbA) consta de un tetrámero de dos cadenas polipeptídicas alfa ( $\alpha$ ) y dos cadenas polipeptídicas beta ( $\beta$ ), cada una unida a un grupo prostético hemo. La función principal es la regulación del transporte de oxígeno ( $O_2$ ), dióxido de carbono y óxido nítrico. Una característica fascinante de la Hb, esencial para su funcionamiento, es su capacidad para unirse al oxígeno de manera cooperativa, lo que hace que la curva de equilibrio del  $O_2$  sea sigmoidea. A medida que el  $O_2$  se une a la Hb, aumenta la afinidad por la unión del  $O_2$  en otros sitios. Lo opuesto ocurre cuando tiene lugar la desoxigenación. En la sangre arterial, la saturación de  $O_2$  es aproximadamente del 98 %, mientras que en sangre venosa es del 75 %. El valor de la presión parcial de  $O_2$  ( $PO_2$ ) en el que el 50 % de los sitios de unión de  $O_2$  en Hb están ocupados se denomina  $p50$ .<sup>1,2</sup>

Hay dos estados estables de la estructura cuaternaria de la Hb, con una diferencia en la orientación de los dímeros  $\alpha_1\beta_1$  y  $\alpha_2\beta_2$  dentro del tetrámero, definidos como el estado tenso (T) y el estado relajado (R). La transición entre el estado T (estado de baja afinidad) y el estado R (estado de alta afinidad) implica la unión cooperativa del oxígeno a la Hb.

Las hemoglobinopatías son los trastornos monogénicos más comunes, resultantes de variantes genéticas patogénicas de los grupos de genes  $\alpha$  o  $\beta$ , o ambos. Las deleciones o mutaciones puntuales en estos genes provocan anomalías en la síntesis o en la estructura de la Hb, dando lugar a síndromes de talasemia  $\alpha$  o  $\beta$ , o variantes estructurales de la hemoglobina, respectivamente.<sup>3</sup> Las variantes de la Hb se clasifican según sus efectos sobre la molécula. Esta clasificación incluye las Hb inestables y las Hb de afinidad alterada.

Hay 151 hemoglobinopatías descritas con afinidad alterada. Aunque algunas variantes afectan a los genes *HBA2* y *HBA1*, la mayoría afectan principalmente al gen *HBB*. De estas variantes, 48 tienen baja afinidad por el oxígeno.<sup>3</sup> Si la reducción de la afinidad por el  $O_2$  es menor, estas variantes pueden ser relativamente asintomáticas, sin embargo, en ocasiones pueden cursar con cianosis o hemólisis por inestabilidad de la molécula de Hb.

Las hemoglobinopatías con baja afinidad por el  $O_2$  pueden presentarse con niveles bajos de saturación en la oximetría de pulso, sin embargo, esto no tiene significado patológico, dado que

existe una mayor entrega de  $O_2$  a los tejidos periféricos. Suelen presentarse con presión parcial de  $O_2$  en sangre arterial ( $PaO_2$ ) normal, lo que revela ausencia de hipoxemia e hipoxia tisular. Siempre se debe considerar una posible variante Hb en pacientes asintomáticos con desaturación en oximetría de pulso.<sup>4</sup>

Presentamos un caso de una hemoglobinopatía infrecuente como diagnóstico diferencial de desaturación.

## REPORTE DE CASO

Una niña de 9 años, previamente sana, consultó a nuestra institución por bajos niveles de saturación en la oximetría de pulso, medidos por su madre, enfermera, mientras la niña jugaba en su casa. Ella estaba completamente asintomática. El examen físico fue normal, no mostró ningún síntoma de hipoxemia crónica. Tenía una curva de crecimiento normal. No había antecedentes familiares de hipoxemia ni niveles bajos de saturación en la oximetría de pulso.

Al ingreso a nuestra institución, se detectó un nivel de saturación del 77 % con oximetría de pulso, con niveles que ascendieron al 97 % con administración de oxígeno exógeno con cánula nasal, por lo que la paciente quedó con aporte de oxígeno exógeno. Las pruebas de laboratorio mostraron una anemia normocítica normocrómica, no regenerativa (Hb: 9,1 g/dl, volumen corpuscular medio 82,2 fl hemoglobina corpuscular media 27,4 pg, reticulocitos 1,3 %). No hubo alteraciones morfológicas características en el frotis de sangre. Una muestra de gases en sangre venosa mostró una  $p50$  de 40,92 mmHg (valor normal: 27 mmHg  $\pm$  2 mmHg). Los niveles de carboxihemoglobina y metahemoglobina eran normales. Se tomó una muestra de sangre arterial, con un nivel de saturación de oxígeno del 90 %. Por razones que no comprendemos hasta ahora, no pudimos lograr una medición de los niveles de oxígeno arterial, debido a un mensaje de falla constante en nuestra maquinaria de muestreo de gases en sangre (con múltiples muestras tomadas con y sin administración de oxígeno exógeno).

La paciente fue evaluada tanto por Cardiología pediátrica como por Neumología. Se descartaron *shunts* arteriovenosos mediante angiotomografía computarizada de tórax, abdomen y pelvis, y ecocardiograma Doppler color. Este último descartó, a su vez, cardiomiopatías congénitas.

Se realizó electroforesis capilar (Capillarys 2; Sebia, Lisses, Francia), la electroforesis en agar

a pH 6.0, las pruebas de isopropanol y de calor, y la tinción supravital para visualizar cuerpos de Heinz mediante métodos estándares;<sup>5</sup> no se evidenciaron alteraciones.

Se realizaron exámenes de laboratorio y oximetría de pulso a ambos padres, sin alteraciones, como se muestra en la *Tabla 1*.

Se aisló ADN de leucocitos de sangre periférica mediante el método *salting-out*,<sup>6</sup> y se amplificó el gen *HBB* utilizando cebadores previamente descritos por Roldán *et al.*<sup>7</sup> Las regiones flanqueantes exónicas e intrónicas se secuenciaron directamente con el método de Sanger y un secuenciador capilar ABI PRISM

**TABLA 1. Parámetros de laboratorio del propósito y sus progenitores**

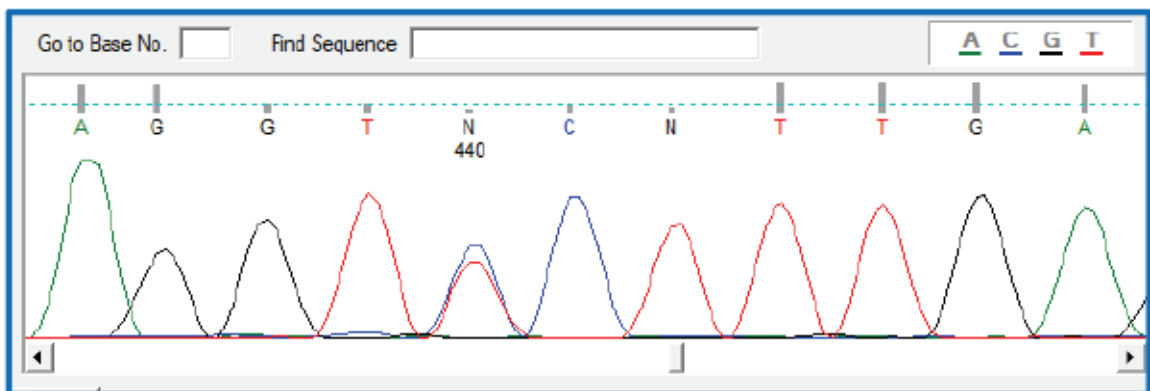
Parámetros	Propósito (edad: 9 años) (Valores de referencia)	Padre (edad: 39 años) (Valores de referencia)	Madre (edad: 37 años) (Valores de referencia)
GR (10 <sup>9</sup> /mm <sup>3</sup> )	3,6 (4,05-5,3)	5,15 (4,50-5,90)	3,82 (4,00-5,20)
Hb (g/dl)	9,7 (12,0-15,0)	15,6 (13,5-17,5)	12 (12,0-16,0)
VCM (fl)	80,6 (78,0-90,5)	87,8 (80-100)	91,6 (80-100)
ADE (%)	13,9 (11,4-13,4)	12,2 (11,4-13,6)	11,8 (11,4-14,4)
CHCM (g/dl)	33,4 (32,6-35,7)	34,5 (31,0-37,0)	34,3 (31,0-37,0)
HCM (pg)	26,9 (26,3-31,2)	30,3 (26,0-34,0)	31,4 (26,0-34,0)
Hematocrito (%)	29 (35,0-45,0)	45,2 (41,0-53,0)	35,0 (36,0-46,0)
Reticulocitos (%)	0,78 (0,5-2,5)	0,66 (0,5-2,5)	0,62 (0,5-2,5)
LDH (UI/L)	203 (Less than 332)	175 (240-280)	200 (240-480)
BT (mg/dl)	0,44 (0,4-1,4)	0,56 (0,4-1,2)	0,46 (0,4-1,2)
BD (mg/dl)	0,18 (0,1-0,4)	0,22 (0,1-0,2)	0,24 (0,1-0,2)
Oximetría de pulso (SpO <sub>2</sub> ) (%)	78 (98-100)	99 (98-100)	98 (98-100)
SaO <sub>2</sub> (%)	90 (98-100)	NR	NR
P50 (mmHg)	40,92 (25-29)	27,4 (25-29)	30,8 (25-29)
Prueba de isopropanol	Negativo	NR	NR
Secuencia de ADN	NM_000518.5: c.125T>C (p.Phe42Ser)	AUSENCIA DE NM_000518.5: c.125T>C (p.Phe42Ser) VARIANT	AUSENCIA DE NM_000518.5: c.125T>C (p.Phe42Ser) VARIANT

GR: recuento de glóbulos rojos; Hb: hemoglobina; MCV: volumen corpuscular medio; ADE: amplitud de distribución eritrocitaria; CHCM: concentración de hemoglobina corpuscular media; HCM: hemoglobina corpuscular media; LDH: lactato deshidrogenasa; BT: bilirrubina total; BD: bilirrubina directa; SpO<sub>2</sub>: saturación parcial de oxígeno; SaO<sub>2</sub>: saturación arterial de oxígeno; P50: presión parcial de oxígeno al 50 % de saturación; NR: no realizado.

3500 (Applied Biosystems, Buenos Aires, Argentina). NG\_000007.3 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/RefSeq/>) fue la secuencia de referencia utilizada para el análisis, utilizando SeqScapev2.6

(Applied Biosystems, Buenos Aires, Argentina). La variante NM\_000518.5: c.125T>C (p.Phe42Ser) se encontró en estado heterocigoto, como se muestra en la *Figura 1*, lo cual confirmó

**FIGURA 1. Secuencia de ADN por Sanger del gen β que muestra la variante NM\_000518.5:c.125T>C (p.Phe42Ser) en estado heterocigota**



el diagnóstico de hemoglobina Denver.

La variante se nombró de acuerdo con las pautas de nomenclatura de mutaciones de la HGVS (*Human Genome Variation Society*).

Con la confirmación de este diagnóstico, se suspendió la administración de oxígeno. Se comenzó tratamiento con ácido fólico.

La paciente actualmente realiza gimnasia artística sin signos ni síntomas de anemia. Persiste con leve cianosis ante esfuerzos. Presenta hemograma actual con Hb 11,1 g/dl, glóbulos rojos  $4,09 \times 10^6/\text{mm}^3$ , hematocrito 35,3 %, volumen corpuscular medio 86,3 fl, hemoglobina corpuscular media 27,1 pg/ml, concentración de hemoglobina corpuscular media 31,4 g/dl, amplitud de distribución eritrocitaria (RDW por su sigla en inglés) 13,6 %, reticulocitos 1,48 %.

## DISCUSIÓN

Hay pocos casos reportados en la literatura de Hb Denver; el primero fue descrito en 1994.<sup>8,9</sup> Hb Denver se debe a la sustitución de B41 (C7) Phe. La posición B41 (C7) corresponde a un contacto hemo, y la sustitución de la fenilalanina hidrófoba por la serina hidrófila afecta la unión de  $\text{O}_2$  causando inestabilidad de la Hb, generando una reducción sustancial en la afinidad por el  $\text{O}_2$ .<sup>8</sup>

La reducción de la afinidad por el  $\text{O}_2$  de ciertas variantes de hemoglobina se suele manifestar con la presencia de cianosis. La cianosis provocada por estas variantes suele asociarse a una saturación arterial normal de  $\text{O}_2$  y no tiene consecuencias sobre la salud del paciente. La importancia de un diagnóstico preciso y oportuno es prevenir procedimientos innecesarios y potencialmente peligrosos para descartar otras causas de cianosis, incluidas las enfermedades pulmonares y cardíacas.

Sin embargo, se ha descrito que, en el caso de la Hb Denver, puede haber no solo una reducción de la afinidad por el  $\text{O}_2$ , sino también una reducción de la saturación arterial de  $\text{O}_2$ . La afinidad por el  $\text{O}_2$  de la molécula de Hb es tan baja que, a la  $\text{PO}_2$  de la sangre arterial, la saturación de  $\text{O}_2$  es aproximadamente la misma que la que se encuentra en la sangre venosa. Sin embargo, el suministro de oxígeno a los tejidos no se ve afectado.<sup>8</sup>

La Hb Denver no solo se ha asociado con la presencia de cianosis como se describió anteriormente, sino también con inestabilidad de la molécula de Hb.

La inestabilidad de la Hb puede causar

diferentes manifestaciones clínicas, según su gravedad. Los pacientes pueden ser asintomáticos, presentarse con anemia hemolítica o incluso con un fenotipo talasémico.<sup>10</sup>

Lo interesante de nuestra paciente fue la ausencia de cianosis, la presencia de anemia sin síntomas clínicos y sin hallazgos de laboratorio sugestivos de hemólisis, y la ausencia de inestabilidad de Hb en los exámenes de laboratorio.

A través de este reporte de caso describimos manifestaciones clínicas que difieren de las ya descritas en la literatura con esta infrecuente hemoglobinopatía.

Resaltamos la importancia de una fuerte concientización en cualquier paciente con oximetría de pulso baja que presenta estudios cardíacos y pulmonares iniciales normales, para poder sospechar y así estudiar variantes de hemoglobina, evitando herramientas diagnósticas que pueden resultar invasivas y potencialmente dañinas.

## Agradecimientos

Los autores desean agradecer a todos los médicos pediatras que participaron en el seguimiento clínico de esta paciente. ■

## REFERENCIAS

1. Thom C, Dickson CF, Olson JS, Gell DA, Weiss MJ. Normal and Abnormal Hemoglobins. In: Orkin S, Nathan D, Ginsburg D, Look T, et al. Nathan and Oski's Hematology and Oncology of Infancy and Childhood. 8<sup>th</sup> ed. London: Elsevier; 2014. Págs.630-72.
2. Yudin J, Verhovsek M. How we diagnose and manage altered oxygen affinity hemoglobin variants. *Am J Hematol*. 2019; 94(5):597-603.
3. Hardison RC, Chui D, Giardine B, Riemer C, et al. HbVar: A relational database of human hemoglobin variants and thalassemia mutations at the globin gene server. *Hum Mutat*. 2002; 19(3):225-33.
4. Verhovsek, M, Handerson M, Cox G, Luo HY, et al. Unexpectedly low pulse oximetry measurements associated with variant hemoglobins: a systematic review. *Am J Hematol*. 2010; 85(11):882-5.
5. Dacie JV, Lewis SM. Practical Haematology. 9<sup>th</sup> ed. London: Churchill Livingstone; 2001.
6. Sambrook J, Russell DW. Molecular cloning: A Laboratory Manual. 3<sup>rd</sup> ed. Vol 1. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 2001.
7. Roldan A, Gutierrez M, Cygler A, Bonduel M, et al. Molecular characterization of beta-thalassemia genes in an Argentine population. *Am J Hematol*. 1997; 54(3):179-82.
8. Stabler S, Jones R, Head C, Shih DT, Fairbanks VF. Hemoglobin Denver [alpha 2 beta 2(41) (C7) Phe-->Ser]: a low- $\text{O}_2$ -affinity variant associated with chronic cyanosis and anemia. *Mayo Clinic Proc*. 1994; 69(3):237-43.
9. Mansukhani M, Kolla B, Altchuler S. Unusually Low Oxyhemoglobin Saturation on Polysomnography. *J Clin Sleep Med*. 2017; 13(4):629-31.
10. Feliú A. Hemoglobinas inestables. *Hematología*. 2009; 13(3):110-2.