

GENETICA, CARACTERÍSTICAS DE LA HEMOGLOBINA S, ANEMIA FALCIFORME Y HAPLOTIPOS

Zulema Bustamante*, Roxana Garcia y Gabina Martinez

*Fac. de Bioquímica y Farmacia – UMSS 2002

RESUMEN

La anemia falciforme es una enfermedad hereditaria, producida por la presencia de la hemoglobina S en su forma homocigoto ($Hb^S Hb^S$), que produce un cambio de aminoácido en la posición 6 de beta globina normal, cambiando ácido glutámico por valina, lo que disminuye la solubilidad de la proteína, de tal manera que la hemoglobina S forma polímeros produciendo un glóbulo rojo en forma de hoz. Esta característica produce la vaso-oclusión, así como la liberación del grupo hemo, que interacciona con la membrana de los glóbulos rojos, causando hemólisis con la consecuente anemia. La enfermedad está acompañada de varios síntomas característicos. La herencia de esta hemoglobina, sigue las leyes mendelianas, de tal manera, que si un progenitor es portador de la hemoglobina S y el otro no, lo probable es que la mitad de los hijos sean portadores de la Hb^S y la otra mitad sano, en cambio si los 2 progenitores son portadores de la Hb^S , en cada gestación hay una probabilidad del 25% de que el niño sea normal, una probabilidad de un 50% de que sea portador de Hb^S y un 25% de probabilidad de que el niño tenga enfermedad falciforme por Hb^S . Los métodos de identificación de hemoglobina S son electroforéticos o cromatográficos, utilizándose también en la actualidad métodos de análisis del ADN del genotipo. También se considera como un aspecto importante la presencia de los haplotipos que determinan en parte las características ancestrales y culturales de las poblaciones que tienen este gen o la severidad de los cuadros clínicos.

INTRODUCCION

Existen varias enfermedades hereditarias por hemoglobinas anormales que afectan a millones de personas en el todo el mundo. Entre estas, las mas importantes son aquellas que están relacionadas con alteraciones en la cadena beta de la hemoglobina, siendo la más importante la drepanocitosis o anemia falciforme, que es una enfermedad que se encuentra con frecuencia en personas de raza negra y su mestizaje, debido a que son portadoras de la hemoglobina S en su forma homocigota ($Hb^S Hb^S$), sin embargo, también puede presentarse como heterocigoto, es decir Hb^A y Hb^S produciendo tan sólo el rasgo falciforme y una resistencia a la malaria, pero al mismo tiempo esta hemoglobina S puede estar relacionada con diferentes haplotipos (1).

En este trabajo se revisará la genética de la hemoglobina S, así como sus características y propiedades químicas, el estudio realizado para la identificación del aminoácido cambiado, su relación con la anemia falciforme, el rasgo falciforme, la distribución geográfica de este problema, los métodos de identificación de la Hb^S , la herencia de la hemoglobina S, los haplotipos de Hb^S y finalmente se realizará un comentario sobre el tema tratado.

GENETICA DE LA HEMOGLOBINA S

El componente proteico de la hemoglobina esta formado por 4 subunidades, 2 cadenas alfa y 2 cadenas beta del tipo de las globinas, el gen para la beta globina esta localizado sobre el cromosoma 11, p 15.5 y tiene 475 variantes alélicas, Este es un miembro de la familia de los genes de la globina, que es un grupo involucrado en el transporte del oxígeno. Otros miembros de la familia de este gen incluyen a alfa, gamma, delta y epsilon y zeta genes de globina. Estos genes son regulares y se presentan en un tiempo específico durante el desarrollo de la vida del ser humano (fig 1). Entre los variantes alélicos, se tiene la hemoglobina falciforme (Hb^S), que es responsable de la formación de los glóbulos rojos falciformes (2).

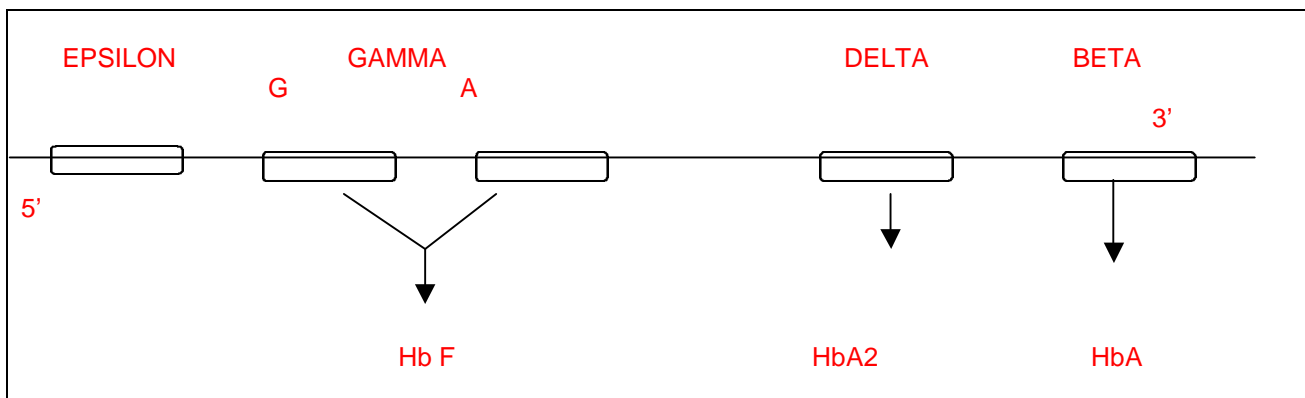


Fig 1. Representación esquemática del gen loci de la globina, mostrando el locus del gen de la beta globina en el cromosoma 11, los dos genes de gamma globinas son activos durante el crecimiento fetal que produce la hemoglobina F(3).

La hemoglobina S se debe a un cambio en el codón GAC normal, que pasa a GTG, que da como resultado la sustitución del aminoácido ácido glutámico por valina, en la posición 6 de la cadena beta, resultando una hemoglobina anormal, que es la hemoglobina S, en lugar de la hemoglobina A normal. En estudios realizados en padres de niños con drepanocitosis revelan que hasta un 40% de su hemoglobina es anormal. Este gen es autosómico y su herencia sigue un patrón mendeliano común y corriente, sin embargo el hecho que el paciente heterocigoto tenga niveles importantes de hemoglobina S indica que el gen se comporta como codominante (1).

CARACTERÍSTICAS E IDENTIFICACIÓN DE LA HEMOGLOBINA S

En 1949, Pauling y colaboradores examinaron las propiedades fisicoquímicas de la hemoglobina de individuos normales y de pacientes con el rasgo falciforme o con anemia falciforme y realizaron pruebas electroforéticas.

En el punto isoelectrico, la carga neta de la proteína es cero y no existe movilidad. Estos puntos isoelectricos para la hemoglobina normal y la hemoglobina falciforme cuando están oxigenadas son de 6,87 y de 7,09, respectivamente. Esta diferencia sugirió que existía una variación entre el número o clase de grupos ionizables en las dos hemoglobinas

Un cambio en la unidad de pH de una disolución de hemoglobina se asocia con otro de alrededor de 13 cargas. La diferencia entre las unidades es de 0,23 y corresponde aproximadamente a unas tres cargas por molécula de hemoglobina.

Como resultado de la electroforesis se determinó que los pacientes con anemia falciforme tienen hemoglobina S pero no hemoglobina A y los pacientes con rasgos falciformes tiene ambas clases de hemoglobina en cantidades aproximadamente iguales. De esta manera se reveló que existía una alteración en la proteína debido a un cambio alélico en un solo gen relacionado a su síntesis, convirtiéndose en la primera demostración de una enfermedad molecular (4).

DETECCIÓN DEL AMINOÁCIDO ALTERADO

La etapa siguiente de estudio consistió en separar las proteínas por hidrólisis con proteasas. Después, se separaron por electroforesis, pero existía mucho solapamiento, luego se realizó una separación cromatográfica y las huellas dactilares resultantes fueron altamente reveladoras. Se vio que se trataba de un péptido de 8 aminoácidos, se secuenció el péptido y se determinó que la diferencia entre la hemoglobina S y A se debía a un aminoácido en la posición 6, es decir que la hemoglobina S contiene valina en lugar de glutamato.

La cadena lateral de la valina es apolar, por lo que aparece un "parche" hidrófobo en la superficie de la molécula, mientras que el glutamato es polar. Esta alteración reduce marcadamente la solubilidad de la hemoglobina S desoxigenada, pero tiene poco efecto sobre la solubilidad de la Hb S oxigenada (4) (5).

La menor solubilidad de la forma reducida de esta hemoglobina da lugar a la formación de una red gelatinosa de polímeros fibrosos llamados tautoides, debido a que en la hemoglobina S desoxigenada estos parches hidrófobos se pegan unos a otros por su tendencia a excluir el agua, haciendo que la hemoglobina polimerice formando agregados en forma de cadena que endurecen y deforman el hematíe produciendo eritrocitos rígidos y en forma de hoz, que atraviesan vasos finos con dificultad o no las atraviesan en absoluto (5)(6). La concentración de la desoxihemoglobina S en los heterocigotos es alrededor de la mitad de los homocigotos, así que la velocidad de formación de fibras será del orden de $2^{10} = 1024$ (4).

ANEMIA FALCIFORME Y SÍNTOMAS

La anemia falciforme es una enfermedad hereditaria, autosómica recesiva, ya que es necesario que el individuo sea homocigoto para tener la enfermedad, que afecta a los glóbulos rojos de la sangre o hematíes. En esta enfermedad, los glóbulos rojos cambian su forma a la de una hoz cuando han liberado el oxígeno. Estos glóbulos rojos falciformes no son flexibles y forman tapones en los vasos sanguíneos pequeños, produciendo una interrupción de la circulación de la sangre que puede dañar los órganos de cualquier parte del cuerpo(7).

En un estudio realizado por Robert Hebbel y sus colaboradores, demostraron que el componente hemo de la hemoglobina tiende a liberarse de la proteína debido a episodios repetidos de la polimerización de la hemoglobina S. Algunos de estos grupos hemo libres tienden a alojarse en la membrana de los hematíes, el hierro de este grupo promueve la formación de componentes muy peligrosos llamados especies reactivas de oxígeno. Estas moléculas dañan los componentes lipídicos y proteicos de la membrana de los glóbulos rojos, produciendo su destrucción (hemólisis). Por lo tanto, en la anemia falciforme se incrementa la hemólisis y desciende el valor de la hemoglobina y el hematocrito aproximadamente a la mitad del valor normal (3).

Una de las características más importantes de esta enfermedad es la vaso-oclusión que es particular de la Hb S, La vaso-oclusión se inicia y es sostenida por la interacción entre las células deformadas por la polimerización de la Hb S el endotelio de los vasos y algunos constituyentes del plasma. La desoxigenación de las células con hemoglobina S produce una salida de potasio de los glóbulos rojos, lo cual aumenta la densidad de los glóbulos y la tendencia de la hemoglobina S a polimerizarse.

La adherencia de los hematíes al endotelio vascular ocurre como consecuencia de daño a las membranas celulares, al ser perturbadas las células endoteliales por los glóbulos rojos conteniendo hemoglobina polimerizada. El balance entre vasoconstrictores y vasodilatadores se altera a favor de los primeros y el flujo de la sangre se hace lento, de tal forma que los procesos de polimerización de la hemoglobina S, la deformidad de los glóbulos rojos y la vaso-oclusión ocurren antes del paso de la sangre(8).

Un porcentaje alto de neutrófilos es un factor de riesgo que puede producir la muerte en anemia falciforme, pues estos interactúan con las células deformadas y el endotelio, que son estimuladas a liberar citoquinas dañinas; por otra parte, los reticulocitos que son liberados prematuramente de la médula o sea debido a la hemólisis severa favorecen también, la adherencia de los glóbulos rojos deformados al endotelio, asimismo, las plaquetas activadas liberan trombospondina, lo cual promueve también adherencia. Por este motivo, la crisis tronbótica o vaso oclusiva ocurre en un 70% de los pacientes(8).

Las manifestaciones clínicas más frecuentes de esta enfermedad son:

Anemia; Crisis aplásica; Dactilitis o síndrome mano pie (los niños pequeños pueden tener dolor e hinchazón en manos o pies); Episodio o crisis dolorosa (se dan con mayor frecuencia en los brazos, manos piernas, o abdomen y se producen por la vaso oclusión); Infecciones graves (las personas afectadas, sobre todo niños, tienen un riesgo grande de padecer sepsis, meningitis y neumonías); Crisis de secuestro esplénico, (el bazo crece por secuestro de glóbulos rojos en su interior);Accidente cerebrovascular (se da cuando la circulación cerebral se bloquea por glóbulos rojos falciformes). Complicaciones pulmonares; Infartos óseos (que afectan a huesos largos y vértebras y con la evolución de la enfermedad, se puede presentar necrosis de la cabeza femoral). Complicaciones visuales, cardiaca, de riñón, del hígado y vías biliares(7) (9).

RASGO FALCIFORME

Las personas con rasgo falciforme son portadoras de la hemoglobina S, son asintomáticas, las cifras y la morfología sanguínea son normales, su desarrollo físico, actividad y longevidad son normales.

La concentración de la Hb S es menor del 50%, no obstante, en algunas circunstancias de anoxia, puede ocasionalmente presentar complicaciones (9).

Los heterocigotos Hb^a Hb^s, presentan una anemia leve y bajo circunstancias normales, presentan la misma eficacia biológica que los homocigotos normales Hb^AHb^A, Sin embargo en las regiones de África, con una incidencia alta de paludismo, los heterocigotos presentan una eficacia mayor que los homocigotos normales, porque la presencia de alguna cantidad de hemoglobina falciforme protege de alguna manera frente al protozoo del paludismo y es un caso que ilustra la relación entre la eficacia biológica y el ambiente, siendo este un caso de lo que se llama polimorfismo compensado (4) (10).

HERENCIA DE LA HEMOGLOBINA S

En relación a la herencia de la hemoglobina S se tienen dos posibilidades:

Si un progenitor es portador de Hb S (rasgo falciforme) y el otro no, lo probable es que la mitad de los hijos sean portadores de hemoglobina S y la otra mitad sanos. Ninguno de los hijos tendrá enfermedad falciforme por hemoglobina S. Los portadores de Hb S están sanos, por lo que pueden transmitir la hemoglobina S durante muchas generaciones sin que nadie de la familia lo sepa.

Cuando el padre y la madre tienen rasgo falciforme los dos, en cada embarazo habrá las siguientes probabilidades:

25% de probabilidad de que el hijo herede la hemoglobina normal del padre y de la madre. En este caso el hijo sería normal.

50% de probabilidad de que el hijo herede la hemoglobina normal de uno de sus padres y la hemoglobina S del otro. En este caso el hijo tendría rasgo falciforme.

25% de probabilidad de que el hijo herede la Hb S del padre y de la madre, en este caso el hijo estaría afectado de células falciformes(7).

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA DE LA HEMOGLOBINA S

La mayor concentración del gen para la drepanocitosis se da en la población negra de Africa ecuatorial, donde hay grupos donde el gen afecta hasta a un 40% de la población(1), el cromosoma más común beta^s, fue encontrado en Benin (Nigeria) y Africa oeste central (11)

También en Europa y Asia se presenta en países de la cuenca mediterránea, como Turquía, Grecia, Italia, España y Oriente Medio, así como en los países árabes e India oriental. En América se da en los Estados Unidos (en personas de origen africano o afroamericano) y en el Caribe, América Central y del Sur (Brasil)(7).

DIAGNOSTICO DE LA HEMOGLOBINA S Y DEL GENOTIPO

Para el diagnóstico de la anemia de las células falciformes, se realiza la electroforesis o separación cromatográfica de hemoglobina en preparados hemolizados de sangre periférica. Para la electroforesis se utiliza acetatos de celulosa y buffer alcalino (pH 8,6 a 9,2), la corrida electroforética se realiza por 30 minutos de 250 a 300 voltios: Después de revelar y decolorar la tira se incuba por 10 minutos a una temperatura entre 60 a 100 grados centígrados y se observa las diferencias de movilizaciones de las hemoglobinas de la sangre.(12) (13).

También para el estudio de la anemia drepanocítica, se usa enzimas de restricción como la *Hpa*. El ADN normal y patológico se somete a la enzima. Los fragmentos resultantes, se colocan en contacto con una sonda radioactiva para el gen de la beta hemoglobina, la sonda hibridiza en la hemoglobina normal con dos fragmentos de 7000 a 7600 nucleótidos de longitud, en la anemia drepanocítica la hibridación ocurre con una sola secuencia de 13000.

Resultados similares se obtienen de estudios de células obtenidas por amniocentesis, lo cual provee una herramienta para la detección prenatal de la anemia drepanocítica. Los marcadores en los que ocurre la hibridación se conocen como RFLPs. El fragmento grande en la anemia drepanocítica se interpreta como evidencia de una mutación en la secuencia de reconocimiento. Dos secuencias nucleotídicas en la misma molécula de ADN tienden a estar juntas (ligamiento). En el ADN de la anemia drepanocítica la cadena beta de la hemoglobina queda ligada con otro gen que de alguna manera altera el reconocimiento en la cual actúa la *Hpa*. Encontrándose (13):

Homocigotos normales (fragmentos cortos)

Homocigotos para la anemia drepanocítica (fragmentos largos)
Heterocigotos (fragmentos largos y cortos)

HAPLOTIPOS DE LA HEMOGLOBINA S

Los haplotipos se definen como diferentes combinaciones de sitios polimórficos a lo largo de una región cromosómica (ADN). Su determinación puede ser útil para la detección de una determinada mutación, cuando esta se encuentra asociada a un haplotipo particular.

En el caso del gen de la hemoglobina beta, estos son segmentos polimórficos a nivel del brazo largo del cromosoma 11 que se encuentran flanqueando al gen a manera de segmentos heterogéneos de ADN. Hasta el momento se han encontrado 6 haplotipos principales y varios menores, todos ellos coheredados con la mutación beta S, como alelos sencillos demostrándose que se correlacionaban con áreas específicas de África y Asia, denominándose como haplotipos Benin (Ben), haplotipo Republica Centro Americana (CAR) o Bantú, haplotipo Senegal (Sen), Haplotipo Camerún (Cam), haplotipo Arabe.Saudí (Arabe) haplotipo Asiático (Indio o Hindú) y haplotipos menores.

Esta caracterización de haplotipos ha permitido dilucidar mosaicos culturales y étnicos de ciertas poblaciones y aclarar, por lo menos parcialmente, la razón de la heterogeneidad clínica de la drepanocitosis o anemia falciforme, debido a que dependiendo del haplotipo se pueden presentar cuadros clínicos de anemia drepanocítica, más benigna o severa (14).

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

La anemia falciforme es una enfermedad genética muy importante en la población, que se presenta principalmente en la raza negra, constituyéndose en una enfermedad de alta prevalencia en algunos países. Esta enfermedad es la causante de morbilidad y mortalidad en las poblaciones que tienen Hb S, en su forma homocigota, conociéndose en la actualidad todas las características genéticas y moleculares de la enfermedad. Sin embargo hasta el momento no existe un tratamiento que pueda normalizar totalmente el funcionamiento de los glóbulos rojos que poseen la hemoglobina S para que el portador pueda realizar su vida normal.

Si bien no hay ningún tratamiento eficaz para esta enfermedad, existe la posibilidad de un trasplante de medula ósea, utilizando fragmentos donados por algún hermano, pero con un riesgo elevado. Los especialistas recomiendan el consumo de ácido fólico para la anemia, también se recomienda que los niños con enfermedad falciforme, comiencen a tomar antibióticos por vía oral a los dos meses de vida para prevenir infecciones graves.

Por otra parte, como se trata de una enfermedad genética, será muy interesante que la solución a este problema sea del tipo genético, pensando en una terapia génica, de gran importancia en la actualidad, debido al gran avance de la ciencia en este campo como el mapeo del genoma humano, que permitirá encontrar soluciones a un gran número de enfermedades genéticas.

Algo interesante observado es que en el caso del rasgo falciforme, en lugar de constituirse en una enfermedad, es más bien una adaptación del hombre al medio ambiente, ya que debido a la presencia de la hemoglobina S y A se constituye en una defensa contra la malaria, predominante en los países del África y otros.

Se debe mencionar que en Bolivia no se han reportado estudios referidos a la presencia de la Hb S, pero será muy importante realizar trabajos de investigación sobre la misma, ya que en algunas regiones del país podrían existir portadores de este gen, especialmente en la región de los Yungas del departamento de La Paz, cuyos antecesores, africanos, vinieron a Bolivia durante la época del coloniaje.

Por este motivo será muy importante determinar en la población boliviana la incidencia de la Hemoglobina S.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos al profesor André Lejeune, por su apoyo y guía para la elaboración de este trabajo.

DIRECCIÓN

Maestría en Bioquímica y Biología molecular y celular. Fac. de Bioquímica y Farmacia. Universidad Mayor de San Simón. Cochabamba- Bolivia. Email: z.bustamante@bio.umss.edu.bo

REFERENCIAS.

1. Pereira, F.D. y Saenz, I. (1996). Hemoglobinopatias en niños. *Colombia Medica*, 27: 146-49
2. Ashley- Koch, A. ; Yang, Q. And Olney, R. (1998). Sickle Hemoglobin (HbS) allele and Sickle Cell Disease. CDC= Human Genoma. Epidemiology network. HUGE Review.
<http://www.cdc.gov/genomics/hgenet/reviews/sickle.htm>
3. How Does Sickle Cell Cause Disease. The mutation in Hemoglobin.
<http://www.sciencemag.org/contents-by-date.10.shtml>
4. Stryer, L. (1985). Bioquímica. Editorial Reverte. España. Pag 79-85.
5. Hemoglobina de células falciformes. <http://www2.uah.es/biomodel/model1/prot/sickle.htm>
6. Anemia falciforme. Medicina>Monografías. <http://www.altillo.com/medicina/monografias/afalci.asp>
7. Espejo, R. Enfermedad falciforme. <http://orbita.starmedia.com/-forobioq/art/enffalciforme.e.html>
8. Rodriguez, J.M. Medicina al día. Avances sobre Anemia Falciforme. *Acta Medica Dominicana*. Vol 20. N. 6
<http://www.bvs.org.do/avance.htm>
9. Restrep,A. *et a.* (1992). Fundamentos de Medicina. Hematología. Editorial. Corporación para investigaciones biológicas. Medellín. Colombia. Pag. 97-101.
10. La evolución biológica. Evolutionibus. Pasado, presente y Futuro de una revolución científica. La dinámica genética de las poblaciones en evolución.
http://www.terra.es/personal/cxc_9747/poblaciones.html
11. Lukens, J.N. (1993). Hematology clinic. Cap. 38. Hemoglobinopathies, S, C,D,E and o associated diseases. Editor. Wintrobe,S. Novena edición.
12. Aplicacion de la técnica de electroforesis (para diferenciar tipos de hemoglobina).
<http://geocities.com/bio135/electroforesis.htm>.
13. Genética. Humana. Universidad Nacional del Noroeste. Fac. De Agroindustrias. Hipertextos del área de Biología Genética. Traducción; Jorge S. Raciman y Ana Maria Gonzales.
<http://www.efn.uncor.edu/dep/biologia/intrbiol/genet3.htm>
14. Rodríguez, W, y Saenz, G. R. (1995) Haplotipos de la hemoglobina S: Importancia epidemiológica, antropológica y clínica. *Revista del Colegio de Microbiólogos y Químicos Clínicos de Costa Rica* Artículos de Educación continua disponible en línea. Vol 5. (GPC 1, 14-15)
<http://www.ucr.ac.cr/-gacetapc/HAPLO.HTM>