

Análisis electroforético de hemoglobinas en llamas

Luis Iñiguez R. Nancy Gutiérrez, Dominique Gourdin
 Instituto Boliviano de Biología de la Altura

SUMMARY: 100 samples of llama's blood from the PATACAMAYA Experimental Center were observed in order to detect differences between hemoglobins. 99% of the samples showed a single band for the hemoglobin, called provisionally type 1. 1% of the samples showed a different band, it was called type 2. Both hemoglobins migrate to a 70% of the migration distance of hemoglobin A (type 1) human witness and to a 70% of the type 1 band (type 2). Complementarily the presence of a polymorphism for blood groups was made clear, and a tentative analysis of the genesis frequencies was established.

Los aspectos de la adaptación animal a medios de baja tensión de oxígeno atmosférico, como los de altura, están siendo recientemente estudiados. La importancia de estas investigaciones se halla plenamente justificada por los problemas con que se plantea la producción de especies exóticas a los ambientes indicados. Una aproximación a estos aspectos puede, razonablemente, ser enfocada a través del sistema fisiológico de la respiración en el que la hemoglobina tiene una principal ubicación por ser vectora del oxígeno atmosférico al nivel tisular.

Se conoce que formas distintas de hemoglobinas, electroforéticamente detectadas, tienen amplia ocurrencia en el reino animal (Braend. 1964 - 1968. Evans et al. 1956. Cabannes y Serain 1955. etc.). En una mayoría de los casos las diferentes hemoglobinas están controladas por sistemas alélicos codominantes.

Por otra parte, se ha sugerido que la presencia de ciertos sistemas polimórficos, en poblaciones animales, puede estar vinculada en alguna extensión con una mayor o menor ventaja adaptativa a un ambiente dado. (Johansson and Rendel 1968). Así, algunos investigadores encontraron una afinidad diferencial por el oxígeno en ciertos tipos de hemoglobinas. (King, et al. 1958).

En base a estos criterios es posible pensar que la hemoglobina constituye una de las estructuras fundamentales para la adaptación a ambientes de baja presión atmosférica.

Este análisis es parte exploratoria de un programa de estudio sobre los fenómenos de adaptación genética y fisiológica de animales que habitan la altura. En el mismo se trató de establecer la existencia de formas distintas de hemoglobinas en llama, además de su modo de herencia.

MATERIALES Y METODOS.— Se estudiaron 100 muestras de sangre de llamas pertenecientes a la Estación Experimental de Patacamaya (3.800 metros sobre el nivel del mar).

Las muestras debidamente identificadas se conservaron en tubos de ensayo conteniendo heparina como anticoagulante. Las mismas fueron analizadas durante las 24 horas posteriores al muestreo.

La electroforesis se condujo sobre hemolizados de cada muestra en Cellogel®. Se utilizó para tal efecto un Buffer de Veronal sódico Ph 9.2 durante 1 hora y 30 minutos con una fuente de poder ajustada a 250 volt. El revelador de bandas fue azul de bromofenol y el transparentado de las tiras de Cellogel hecho mediante inmersión continua en un baño de Metanol puro durante un minuto y por el mismo tiempo en una solución de Metanol (43 c. c.) Acido Acético (7. c. c.) glicerina (0.5 c. c.),

Durante las corridas electroforéticas de las 10 primeras muestras se incorporó como testigo una muestra de sangre humana cuya hemoglobina era conocida (A). Desde que una banda de hemoglobina fue común para las primeras diez muestras de llama, se incluyó a una de ellas como un segundo testigo en las corridas posteriores.

RESULTADOS Y DISCUSION.— Con excepción de un solo caso, las corridas electroforéticas en Llama exhibieron una misma banda de migración. La banda denominada provisionalmente "tipo 1", migra mas lentamente que la correspondiente al testigo humano A, aproximadamente a un 70% de la distancia de ésta última. (Cuadro 1).

CUADRO 1

Anodo (-)	_____	_____	_____
Partida	-----	-----	-----
Catodo (+)	Testigo	Tipo 1	Tipo 2

Se han podido observar pequeñas diferencias en torno a la principal fracción de migración; sin embargo parece ser que el poder resolutivo de Cellogel® fue muy bajo para detectarlas.

• Producto de Chemstron Co. Milán --- Italia.

Lo anterior implica repetir las **electroforesis** sobre otros medios como el Gel de almidón que permitan resolver las posibles diferencias entre hemoglobinas.

Las muestras debidamente identificadas se conservaron en tubos de ensayo conteniendo heparina como anticoagulante. Las mismas fueron analizadas durante las 24 horas posteriores al muestreo.

La presencia de una banda migrando a una distancia relativa del 70% respecto al tipo anteriormente descrito, hace suponer la existencia de mas de una forma de hemoglobina en poblaciones de llamas. Esta nueva banda denominada "tipo 2" (Cuadro 1), fue observada en sangre de un animal recientemente adquirido por la Estación Experimental de Patacamaya y que proviene de una zona diferente a la del rebaño en general. Se desconoce por lo tanto su comportamiento en la segregación.

Como se indicó, esta explotación fué planeada para la determinación de grupos o tipos de hemoglobinas en la especie en cuestión teniendo como base el único rebaño existente en el país con identificación de pedigrees. En consecuencia y aparentemente el efectivo de la mencionada población es insuficiente para alcanzar una conclusión definitiva. Por lo tanto la alternativa a tomar debe incluir el muestreo de un mayor número de animales a diferentes estratos de altura desde los 2500 metros a los 5000 metros de altura sobre el nivel del mar y en cada estrato establecer las frecuencias génicas y su posible asociación con el nivel de altitud.

En la actualidad se están conduciendo estudios sobre las posibles diferencias entre las dos fracciones proteicas principales encontradas (tipos 1 y 2) en lo relativo a su afinidad por el oxígeno. El estudio ha sido extendido a estimar aspectos más intrínsecos del metabolismo del eritrocito como son las relaciones de isoenzimas que intervienen en el ciclo de oxidación y reducción de la hemoglobina.

Lo anterior debe igualmente tener relación con los grupos sanguíneos de la especie en estudio. Preliminarmente, en esta experiencia se utilizaron antiguos humanos para establecer diferencias en el grupo ABO. Este grupo está determinado, en humanos, por tres alelos autosómicos: A, a' y a. Tanto A como a', son dominantes sobre el alelo a, siendo A y a' condominantes. Si este mismo mecanismo opera en llamas, es posible extenderlo a los fenotipos observados, los mismos que se expandirían de acuerdo la expresión $(p+q+r)^2$ donde p q y r serían las frecuencias de los alelos A, a' y a respectivamente.

El cálculo de las frecuencias génicas para este tipo de alelismo está dado en el cuadro 2. Las frecuencias se calcularon a partir del presunto recesivo asumiendo frecuencias en equilibrio Hardy-Weinberg.

FRECUENCIAS GENICAS EN EL GRUPO ABO DE LLAMAS. GRUPO SANGUINEO

	AB	A	B	O	Totales
NUMERO	4	0	73	10	87
PROPORCION	.046	0	.839	.115	1.000
Frecuencias génicas $(p+q+r)^2$ asumiendo $r = \sqrt{o}$					
p	0.03		p'	0.79	
q	0.76				
r	0.21				

Desde que no se encontró reacción para el anti A cabe suponer si se trata de no existencia de dicho alelo O de insuficiente número de observaciones para detectarlo. Esta sería una primera evidencia de la existencia de polimorfismos en llamas.

CONCLUSIONES.— Los presentes resultados del presente análisis permiten obtener las siguientes conclusiones:

1) El método de resolución electroforético del Co-llogel debe ser reemplazado por métodos más depurados como el de Gel de almidón para detectar posibles diferencias en hemoglobinas de llamas.

2) La presencia de una banda distinta de 100 similares hace suponer la existencia de polimorfismos en el gen que controla la síntesis de hemoglobina, hecho que hace necesario investigar sobre un mayor número de individuos y diferentes estratos de altura.

SUMARIO.— 100 muestras de sangre de llamas de la Estación Experimental de Patacamaya fueron observadas para detectar diferencias entre hemoglobinas. Un 99% de las mismas presenta una sola banda para la hemoglobina provisionalmente denominada tipo 1. 1% de las muestras mostró tener una banda diferente y fué denominada tipo 2. Ambas hemoglobinas migran a un 70% de la distancia de migración de un testigo humano de hemoglobina A (tipo 1) y a un 70% de la banda de tipo 1 (tipo 2). Se evidenció complementariamente la presencia de un polimorfismo para grupos sanguíneos y un análisis tentativo de las frecuencias de genes fué establecido.