

Comunicación del primer hallazgo de la Hemoglobina Mutada en Bolivia "Hb J Bolivia"

*Mario Galarza, Enrique Vargas, Hilde Spielvogel, Rosario Peñaloza, Gladys de Contreras, Armando Rodríguez y Nancy Gutiérrez

Abstract

The first mutated hemoglobin found in Bolivia, "J Bolivia", is reported. This Hb is of rapid migration, stable in isopropanol, presents the mutation in the alpha chain and has hyperaffinity for oxygen. It was found in a 22 year - old man and in his 45 year - old mother who were mestizos from the bolivian altiplano.

The authors suggest that the polycythemia found in both subjects might be due to the mutated Hb.

Resumen

Se comunica la primera Hb mutada encontrada en Bolivia "J Bolivia", siendo esta Hb de migración rápida, estable al isopropanol de mutación en cadena alfa e hiperafn.

Esta variante se halló en un joven de 22 años y en su madre de 45 años, correspondientes a población mestiza del altiplano boliviano.

La eritrocitosis que presentan ambos sujetos se debe a la Hb mutada.

Introducción

De acuerdo al código genético existe la posibilidad de presentarse 2.000 hemoglobinas mutadas, sin embargo, sólo las 2/3 partes de estas hemoglobinas pueden ser detectadas por electroforesis. Desde que Pauling en 1949 describió la hemoglobina "S", la comunicación de hemoglobinas mutadas ha sido frecuente, así por ejemplo, hasta 1973 se comunicaron 171 hemoglobinas mutadas por sustitución, 15 de las cuales corresponden a eritrocitosis con alta afinidad por el oxígeno (1).

En 1975 se publicó un caso con policitemia relativa, portador de la hemoglobina mutada RAHERE (R82 - Lys - Thr) hiperafn, con 2-3 DPG disminuído (2).

* Instituto Boliviano de Biología de Altura

En 1979 en un paciente poliglobúlico de 65 años de edad originario de España se encontró la hemoglobina anormal J Amiens, sin alteración funcional (3).

Una publicación de 1980 reporta otras hemoglobinas anormales "Malmö Y Kempsey" en 2 pacientes poliglobúlicos de 36 y 58 años respectivamente (4).

Recientemente se publicó una hemoglobina hiperafín en un paciente con policitemia vera (5).

En Bolivia los hallazgos de Hemoglobinopatías se describen en la raza negra de la población de los Yungas - La Paz (7) y en un atleta venezolano de raza negra que asistió a los VII Juegos Bolivarianos, realizados en La Paz en 1977. (8):

Material y Métodos

El paciente en estudio es el segundo hijo de una familia de cuatro miembros, edad 22 años, sexo masculino, peso 50 kg, talla 150 cm. población mestiza, originario de una región del altiplano boliviano de 3.669 m. de altitud. Desde 1985 manifiesta frecuentes cefaleas, cianosis, hiperemia.

El recuento de glóbulos rojos se realizó en un contador Coulter, el hematocrito se determinó por el micrométodo, la dosificación de hemoglobinas se hizo por el método de Drabkin, el recuento de reticulocitos por la técnica de azul brillante crecil y azul de metileno, el recuento de plaquetas por el sistema Unopette y la fórmula leucocitaria por la técnica clásica.

Los gases en sangre arterial se determinaron en un equipo IL Meter 329, la saturación de oxígeno en el oxímetro FP 133 (Método directo).

La dosificación de glucosa, por la técnica de la ortotoluidina, el ácido úrico por el método de Carway.

Una vez realizado el hemolizado de glóbulos rojos según Drabkin (9), la pesquisa de la hemoglobina mutada fue realizada por electroforesis en acetato de celulosa, tampón Tris glicina pH 8,6.

La Hb en cuestión fue corroborada por isofocalización en agarose IEF, anfolinas LKB de pH 6-8, 7-9, 3,5-10 (técnica modificada por Galarza; 225 mg de agarose Pharmacia Fine Chemicals, 13.2 ml de agua desionizada. Una vez fundido el agar en b.m. se agregó 0.8 ml de anfolinas de pH 6-8; 7-9 y 0.2 ml de pH 3.5 - 10, migración a 20 mA, 350V en un equipo LKB). Las hemoglobinas fueron fijadas con ácido tricloro acético al 20%, las placas secas fueron coloreadas con negro amido.

La electroforesis en agar se efectuó según la técnica de Robinson (10).

La estabilidad de la hemoglobina mutada fue determinada en isopropanol según el método de Carrel (11).

La electroforesis de cadenas de hemoglobinas se procesó en tampón de úrea 6M, beta tris EDTA ácido bórico (12).

Resultados

En la búsqueda permanente de hemoglobinopatías en sujetos citocitómicos que realizan consultas médicas en el IBBA, por técnicas clásicas se detecta la primera variante de Hb en Bolivia.

Los resultados de la tabla I, muestran tanto en el hijo como en la madre una marcada eritrocitosis con discreta reticulocitosis, en el hijo se advierte una leve macrocitosis con hiperchromia. La serie blanca y trombocítica, en ambos sujetos no presentan alteraciones.

Tabla I
Examen Hematológico

	Pacientes en Estudio	Madre del paciente
Glóbulos Rojos	7.300.000 m ³	6.400.000 mm ³
Hemoglobina	26,6 g/dl	20,5 g/dl
Hematocrito	72%	60%
V G M	99 um ³	93 um ³
C C M H	36.4%	31.4%
Reticulocitos	146000	153600
Plaquetas	210000	180000
Glóbulos Blancos	5500	5700
Segmentados	70	69
Cayados	1	1
Linfocitos	24	26
Eosinófilos	1	1
Basófilos	1	-
Monocitos	3	3

El paciente en estudio, en la tabla II muestra una hiperuricemia, marcada hipoxia e hiperapnea con acidosis respiratoria. La saturación de oxígeno no guarda relación con la Pa O₂ francamente baja. En la madre del paciente también se advierte una hiperuricemia.

Tabla II

Gases en Sangre Arterial - Glucosa y Acido Urico

	Paciente en estudio	Madre del paciente
Glucosa	70 mg%	92 mg%
Acido Urico	9,7 mg%	7,8 mg%
Pa O2	38 mm Hg	
Pa CO2	40 mm Hg	
pH	7.33	
Saturación de Oxigeno	81 %	

En la tabla III, la tasa de Hb mutada, es superior en el hijo que en la madre. En las figuras 1,2,3, se destacan las características electroforéticas y de isofocalización de la Hb mutada. En la figura 4 se advierte que la Hb mutada es alfa variante, estable al isopropanol (Tabla IV). El estudio familiar determina que la Hb mutada fue adquirida de la madre, Fig. 5.

Figura 1. Electroforesis en Cellogel



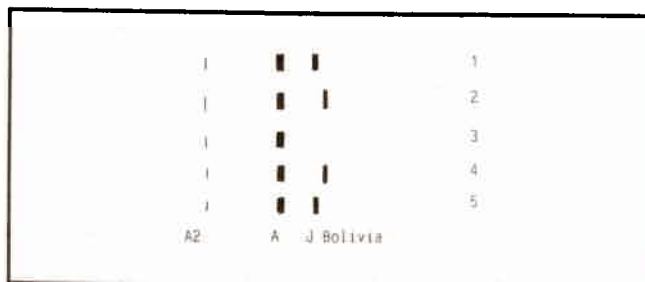
La Hb mutada es de migración rapida 1-Padre, 2-Madre, 3-Hijo, 4-Control

Tabla III

Cuantificación de la Hb mutada

	Hijo %	Madre %
Hb Mutada	38.85	35.28
Hb A	56.26	59.61
Hb A2	3.39	3.60
Anhidrasas	1.49	1.70

Figura 2. Isofocalización de Hemoglobina



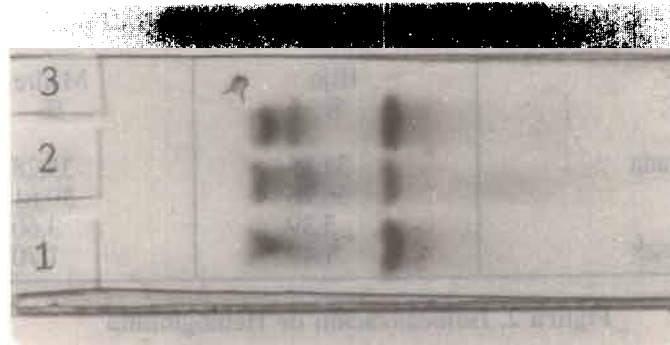
La Hb mutada es de migración rápida, isofocaliza por debajo de la Hbj calabria.
 1 - Hijo, 2 - J Calabria, 3 - Normal, 4 - J Calabria, 5 Madre.

Figura 3. Electroforesis en Agar PH6



La Hb mutada, en bacto agar no muestra separación de las hemoglobinas normales.
 1 - Normal, 2 - Sujeto en estudio, 3 - AF, 4 - Normal, 5 - Madre.

Figura 4. Electroforesis de Cadenas



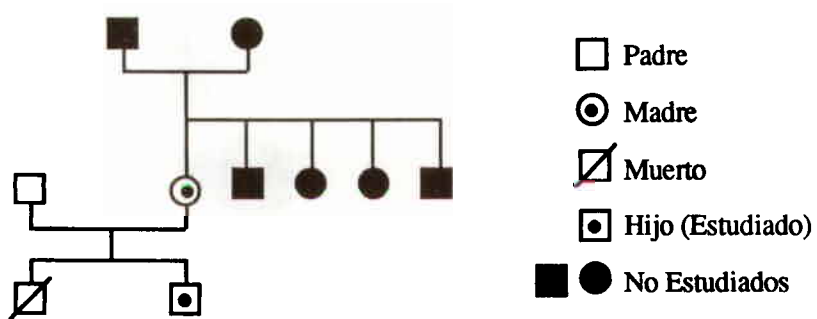
La electroforesis en cellogel, en urea beta mercapto etanol, muestra una cadena alfa mutada.
1 - Normal, 2-3 - Sujeto en Estudio

Tabla IV

Test de Estabilidad

	5'	10'	15'	20'	25'
Sujeto en estudio	-	-	-	-	-
Control eritrocitosis secundaria	-	-	-	-	-
Sangre de Cordón Umbilical	-	Td	PP	PP	PP
			+	++	+++

Figura 5. Estudio Familiar



Discusión

El hallazgo de esta primera Hb mutada en Bolivia, nos sugiere estudiar en las eritrocitosis patológica secundaria en altura y en la eritrocitosis patológica primaria, a las eritrocitosis por mutación de hemoglobinas. Efectivamente el hecho que, tanto el hijo, como la madre presenten la misma Hb mutada, indica que la eritrocitosis en ambos sujetos ha sido desencadenada por accidente molecular en la cadena alfa de la Hb, este hecho es corroborado por elevada saturación de oxígeno (81%) frente a una PaO₂ baja (38mmHg), la cual implicaría que esta Hb es de alta afinidad por el oxígeno, acentuándose más la hipoxia y por ende la eritrocitosis en estos sujetos que viven en la altura por el efecto HH (Hipoxia hipobárica-hipoxia tisular). Sin embargo, si bien el mayor porcentaje de hemoglobinas mutadas en eritrocitémicos es hiperafín, existen grupos de pacientes con esta patología con hemoglobinas hipoafín o con afinidad normal. Esto significa, que la hiperafinidad de las hemoglobinas por el oxígeno, no sería el único factor desencadenante de las eritrocitosis, (1, 2, 3, 4, 5), de modo que en estos casos intervendrían otros mecanismos desreguladores.

La estabilidad de esta hemoglobina mutada en isopropanol, nos hace inferir que probablemente el accidente molecular no se ha producido en la vecindad del heme, por cuanto la mayor parte de las hemoglobinas inestables presentan alteraciones en este sitio.

Por estar ubicada esta Hb mutada entre las variantes J, la designamos "Hb J. Bolivia".

* Este trabajo fue realizado con el soporte económico de la U.M.S.A y Cooperación Francesa.

Bibliografía

1. Clínica hematológica. Hemoglobinas anormales. Ed. Salvat, Barcelona, 1976, Pags 39-46
2. LORKIN PA., STEPHENS A.D., BEARD M.E.J., WRIGLEY P.F.M. Hemoglobin Rahere (B82 Lys - Thr): a new high affinity haemoglobin associated with decreased 2-3 diphosphoglycerant binding and relative polycythemia. 1975, British Medical Journal.
3. ELION J., WACJMAN H., Hemoglobins B17 (A14) Lys-Asn Coincidence d' une polyglobulie primitive, Nouv. Rev. Hematol 1979, 21,224.

4. GACON G., WACJMAN H., BOLKHODJA DUNGAN O BOUSSER J. Polyblolulies consecutives a des hemoglobines anormales hipaffines pour l' oxigene. La Nouvelle Presse Medicales, 1980,9, N°5.
5. LE QUERREC A., LACOMBE C., BLOUQUIT Y., RIOU J., TROUSSARD X., GALACTEROS F. Polyglobulie Consecutive a una hemoglobine hiperafine: Hb Brigham a 2B 2 100 G2 Pro-Leu. Nouvelle Revue Francaise d' Hematologie, 1987, vol 29, N° 5 pags. 344.
6. CRIALES H., ERGUETA J. El falciformismo de los glóbulos rojos y la altura. Ateneo de Medicina 1966, pags. 56-60.
7. VASQUEZ E., ERGUETA J., Galarza M., Hemoglobinas S en Bolivia, Tesis de Grado. 1972.
8. CRIALES H., GALARZA M., ERGUETA J., FERNANDEZ W. La raza negra y la altura. Revista Médica, 1978, vol II. N°3 pags. 72-177.
9. DRABKIN L.A., Simplified Technic for large cristalization of human haemoglobin. Arch. Biochem, 1949, 21, 224.
10. ROBINSON J., Lab. Clin, Med. 1975, 50,745.
11. CARREL R.W., KAY R. A simple method for detection of inestable haemoglobin. Brit Journ. Haemat., 1972, 23, 615 619.
12. SHNEIDER R., Clin. Chem, 1974, 20: 1111.