

1988-2

REG. No. 081277621

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS



HEMOGLOBINA FETAL Y VALORACION HEMATOLOGICA
EN NIÑOS CON SINDROME DE DOWN

TESIS PROFESIONAL

PRESENTADA POR:

CAROLINA ENRIQUEZ SANDOVAL

PARA OBTENER EL TITULO DE:
LICENCIADO EN BIOLOGIA

DIRIGIDA POR:

DRA. MA. DE LOURDES RAMIREZ DUEÑAS
GUADALAJARA, JAL., 1989

A mis padres Víctor y Teresa
por brindarme la oportunidad
de realizarme como profesio-
nista.

A Hugo, David, Eduardo, Andrés,
Jorge y Fernando por impulsarme
a seguir adelante.

Esta tesis fue elaborada en la División de Genética de la Unidad de Investigación Biomédica de Occidente, IMSS, en colaboración con el Instituto Down de Occidente, bajo la dirección de la Dra. Ma. de Lourdes Ramírez Dueñas y la asesoría de:

Q.F.B. BERTHA IBARRA CORTES.

A G R A D E C I M I E N T O S

A la Q.F.B. BERTHA IBARRA CORTES.

Por la realización del presente trabajo, su amistad, asesoramiento y enseñanzas.

A la Dra. MA. DE LOURDES RAMIREZ DUEÑAS.

Por la dirección de la presente tesis y sus enseñanzas.

Al Dr. FERNANDO RIVAS.

Por su colaboración e interés a la presente tesis.

Al Ing. ROGELIO TROYO.

Por su participación en este trabajo.

A MA. EUGENIA DE LA MORA Y EVA OCHOA BENAVIDES.

Por su amistad y asesoramiento técnico.

Al Biol. ALEJANDRO MARTINEZ MARTINEZ.

Por compartir conmigo sus conocimientos y brindarme su amistad incondicional.

Al Personal del INSTITUTO DOWN DE OCCIDENTE.

Por las facilidades otorgadas para la realización - del presente trabajo.

I N D I C E

	Pag.
I. INTRODUCCION.	1
II. ANTECEDENTES	3
II.1 Eritropoyesis.	3
A. Desarrollo y maduración del eritrocito.	3
B. Alteraciones en la maduración del - eritrocito.	5
II.2 Hemoglobina fetal.	10
A. Relación con las hemoglobinas normales	10
B. Ontogenia.	11
C. Estados anormales de la hemoglobina - fetal.	13
II.3 Síndrome Down.	15
A. Aspectos clínicos, citogenéticos y bioquímicos más relevantes.	15
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	19
IV. HIPOTESIS.	20
V. OBJETIVOS.	21
VI. MATERIAL Y METODOS.	22
VII. RESULTADOS.	30
VIII. DISCUSION.	48
IX. CONCLUSIONES.	54
X. BIBLIOGRAFIA.	56

1. OBJETIVO GENERAL

1.1. OBJETIVO ESPECÍFICO

1.2. OBJETIVO ESPECÍFICO

1.3. OBJETIVO ESPECÍFICO

1.4. OBJETIVO ESPECÍFICO

1.5. OBJETIVO ESPECÍFICO

1.6. OBJETIVO ESPECÍFICO

1.7. OBJETIVO ESPECÍFICO

1.8. OBJETIVO ESPECÍFICO

1.9. OBJETIVO ESPECÍFICO

1.10. OBJETIVO ESPECÍFICO

I. INTRODUCCION

1.1. OBJETIVO ESPECÍFICO

1.2. OBJETIVO ESPECÍFICO

1.3. OBJETIVO ESPECÍFICO

1.4. OBJETIVO ESPECÍFICO

1.5. OBJETIVO ESPECÍFICO

1.6. OBJETIVO ESPECÍFICO

1.7. OBJETIVO ESPECÍFICO

1.8. OBJETIVO ESPECÍFICO

1.9. OBJETIVO ESPECÍFICO

1.10. OBJETIVO ESPECÍFICO

1.11. OBJETIVO ESPECÍFICO

1.12. OBJETIVO ESPECÍFICO

1.13. OBJETIVO ESPECÍFICO

1.14. OBJETIVO ESPECÍFICO

1.15. OBJETIVO ESPECÍFICO

La evaluación hematológica en un individuo permite el conocimiento de los factores que participan en el desarrollo y maduración adecuado del eritrocito y el leucocito. Este trabajo se enfoca principalmente al estudio de la serie roja.

En las diferentes etapas por las que tiene que pasar una célula normoblástica hasta llegar a ser eritrocito maduro, participan una serie de factores como vitamina B₁₂, ácido fólico y hierro, lo cual nos habla de la especialización de esta célula. Cualquier alteración que envuelva dichos factores trae como consecuencia modificaciones de los eventos bioquímicos del desarrollo del normoblasto, dando lugar a diversas patologías del eritrocito.

La hemoglobina es la molécula proteica más importante y abundante del eritrocito, de la cual se conocen su estructura y secuencia de aminoácidos. Se sabe que existe en el humano en seis diferentes tipos que caracterizan los diferentes períodos del desarrollo, embrionario, fetal y adulto, de acuerdo a patrones de activación e inactivación de los genes globínicos de tal forma que los genes activos en la etapa embrionaria no están presentes en la fetal y adulta, y los genes activos en la etapa fetal se encuentran apagados o mínimamente activos en la

etapa adulta. La síntesis de hemoglobina fetal, que en recién nacidos normales se encuentra en un rango de 60 a 80% aproximadamente se ve paulatinamente disminuida durante los seis primeros meses de vida hasta alcanzar los niveles del adulto (2% aproximadamente); sin embargo, se ha observado que los niveles de esta hemoglobina se encuentran elevados en distintos trastornos hematológicos congénitos como talasemias, persistencia hereditaria de hemoglobina fetal y anemia drepanocítica y adquiridos no neoplásicos como expansión eritroide aguda, anemia refractaria, perniciosa y sideroblástica etc., y neoplásicos como leucemias y linfomas entre otros. Además se ha reportado que existen trastornos en la concentración de la hemoglobina fetal en niños con diversas cromosopatías, entre ellas en el síndrome Down.

En la presente tesis se evaluaron 83 niños con síndrome Down y 77 niños control hermanos de los afectados con el propósito de observar su comportamiento hematológico así como verificar si existe alguna alteración en la concentración de la hemoglobina fetal en los niños con síndrome Down.

1970/1971

1972/1973

1974/1975

1976/1977

1978/1979

1980/1981

1982/1983

1984/1985

1986/1987

II. ANTECEDENTES

1988/1989

1990/1991

1992/1993

1994/1995

1996/1997

1998/1999

2000/2001

2002/2003

2004/2005

2006/2007

2008/2009

2010/2011

2012/2013

2014/2015

2016/2017

II.1 ERITROPOYESIS

A. DESARROLLO Y MADURACION DEL ERITROCITO.

En toda la médula ósea se localizan las células primordiales o pluripotenciales que se perpetúan por sí mismas y que al diferenciarse se comprometen en una sola línea celular, dando lugar para la serie roja a una unidad anatómica de la eritropoyesis que en el adulto normal se denomina isla eritroblástica de la médula ósea, que consiste de una o dos células madre comprometidas localizadas centralmente, rodeadas por precursores de células rojas en los estados pronormoblasto a normoblasto ortocromático, a lo largo de la extensión citoplásmica (1,2), cuyas principales características son:

PRONORMOBLASTO. Es la primera célula identificable de la serie eritrocítica, con un diámetro de 20 a 25 μm , cuyo núcleo ocupa aproximadamente el 80% de esta área. Existe una pequeña cantidad de hemoglobina en el citoplasma. El pronormoblasto da origen al normoblasto basófilo (2,3).

NORMOBLASTO BASOFILO. Muestra un diámetro de 16 a 18 μm , el núcleo ocupa tres cuartas partes del área celular. Sigue formándose hemoglobina que queda oculta por la basofilia del citoplasma dada por la presencia de polirribosom--

mas. Los siderosomas y las masas de ferritina libres o -
unidas a la membrana son identificables (2,3).

NORMOBLASTO POLICROMATOFILO. Siguiendo la segunda divi--
sión mitótica, el normoblasto desarrolla cantidades eleva
das de hemoglobina dentro del citoplasma. Estas células_
miden de 12 a 15 μm de diámetro, el núcleo ocupa menos -
de la mitad del área celular y es usualmente excéntrico .
Los polirribosomas son diluídos por la hemoglobina asu -
miendo la apariencia policromatófila. Los siderosomas y_
moléculas de ferritina son identificadas en el citoplasma
y existe una síntesis mayor de heme por la heme sinteta -
sa mitocondrial (2,3).

NORMOBLASTO ORTOCROMATICO. Después de la división mitoti
ca final, la proporción de hemoglobina se incrementa den
tro del eritroblasto a tal grado que el citoplasma se ti
ñe casi tan acidófilo como el del eritrocito maduro. El_
núcleo se vuelve pignótico y marcadamente disminuido en -
tamaño, tiene un diámetro de 10 a 15 μm , es excéntrico -
y ocupa aproximadamente un cuarto de área celular. En es
te estadio el normoblasto muestra movimientos ondulantes,
probablemente en preparación a la expulsión del núcleo -
(2,3).

RETICULOCITO. El normoblasto muestra aumento de movimien

tos ondulantes por lo que la célula se escinde desigualmente, una porción pequeña contiene el núcleo y un borde delgado de citoplasma con hemoglobina, mientras que la otra porción es grande y da lugar al reticulocito. El núcleo expulsado es fagocitado. Por diapédesis, el reticulocito pasa a la circulación para madurar en 24 a 48 horas. Durante este período el reticulocito sintetiza el 20% del contenido hemoglobínico de la célula roja y emprende la autofagia y expulsión de los organelos; una vez completado este proceso, la célula es eritrocito maduro (1,2,3).

Las 48 a 72 horas durante las cuales la célula madre eritropoyética, bajo el estímulo de la eritropoyetina, se diferencia de pronormoblasto a reticulocito, se caracterizan por maduración celular y proliferación. Durante este período, organelos especializados como mitocondrias, aparato de Golgi, polirribosomas y siderosomas, es decir, la maquinaria celular para la síntesis de hemoglobina, enzimas y proteínas estromales se desarrollan (2).

B. ALTERACIONES EN LA MADURACION DEL ERITROCITO.

Las alteraciones morfológicas observadas dentro del desarrollo del pronormoblasto a eritrocito reflejan la especialización funcional de estas células. Cualquier alteración en la secuencia sincronizada de maduración y

proliferación, como deficiencia o inhibición metabólica - de la utilización de la vitamina B₁₂, ácido fólico, hierro, biosíntesis defectuosa de las globinas o del heme, - no sólo provocan la aparición de un eritrocito alterado - con características particulares de acuerdo a estos errores bioquímicos, sino que también pueden dar evidencias - morfológicas de desincronización metabólica en el desarrollo del normoblasto tales como megaloblastosis y detención de maduración (2).

Los requerimientos nutricionales de los componentes que participan en el desarrollo y maduración del eritrocito y su papel metabólico se describen a continuación:

VITAMINA B₁₂ ó COBALAMINA. La vitamina B₁₂ es un elemento nutritivo esencial para todas las células del organismo. Es sintetizada en forma exclusiva por las bacterias pero se encuentra presente en el hígado del animal normal, donde existe como metilcobalamina, adenosilcobalamina e hidroxilcobalamina. La absorción intestinal de la cobalamina es mediada por sitios receptores en el íleon que requieren que la vitamina B₁₂ sea fijada por el factor intrínseco, una glucoproteína altamente específica, secreta da por las células parietales de la mucosa gástrica. La vitamina B₁₂ es necesaria para convertir los nucleótidos de ribosa en nucleótidos de desoxirribosa, una de las --

etapas iniciales en la formación del ADN. Así, la falta de esta vitamina dificulta la maduración y división nuclear. Las células eritroblásticas de la médula ósea no pueden proliferar rápidamente; además alcanzan dimensiones mayores que las normales, constituyendo los megalo-blastos o eritrocitos de gran tamaño denominados macrocitos, los cuales tienen una membrana débil con forma voluminosa y oval, en lugar de ser el disco bicóncavo. Estos macrocitos son capaces de transportar oxígeno, pero su fragilidad les impone una vida corta. En consecuencia se dice que la deficiencia de vitamina B₁₂ causa maduración insuficiente en el proceso de la eritropoyesis, lo cual no impide la formación normal de la hemoglobina, pero sí la cantidad media de hemoglobina en el macrocito ya que es considerablemente mayor que la normal porque el volumen medio de cada glóbulo es mayor que el normal. La causa usual de maduración insuficiente no es la falta de vitamina B₁₂ en la dieta sino la incapacidad de absorberla como ocurre en la anemia perniciosa, en donde la anomalía básica es una mucosa gástrica atrófica incapaz de secretar el factor intrínseco (1,2,4,5).

ACIDO FOLICO. El ácido fólico está ampliamente distribuido en las plantas; su deficiencia en los mamíferos provoca una disminución del crecimiento y la apari-

ción de anemia. El ácido fólico o folato es un complejo formado por pteridina, ácido paraaminobenzóico y ácido glutámico. La molécula de ácido fólico al ser reducida a tetrahidrofolato interviene en reacciones en las que se transfieren unidades de carbono, como ocurre durante la biosíntesis de las purinas; participa también en reacciones de metilación con la vitamina B₁₂. El ácido fólico promueve la metilación del desoxiuridilato para formar desoxitimidilato, un precursor necesario para la síntesis del ADN. El aspecto bioquímico más sobresaliente de la deficiencia del ácido fólico es el impedimento de la biosíntesis de las purinas y de la timina, una pirimidina. Como en el caso de la vitamina B₁₂, la deficiencia de ácido fólico produce anemia caracterizada por la aparición de megaloblastos (grandes glóbulos rojos inmaduros), de manera que este compuesto también guarda relación con la maduración de los eritrocitos (2,4,5,6).

HIERRO. El hierro es uno de los elementos más abundantes en la corteza terrestre y en el organismo; su función principal incorporado al heme en estado ferroso es facilitar el transporte de oxígeno por la hemoglobina. Los mayores requerimientos de hierro ocurren en la infancia y adolescencia, siendo las carnes de órganos, legumbres, melazas y perejil las fuentes más ricas en este metal. Nor

malmente la pérdida de hierro en el hombre es de aproximadamente 1 mg. por día como resultado de la descamación del intestino y de otras células que contienen hierro. El hierro de las células de la mucosa intestinal es absorbido en estado ferroso, desintegrado y liberado dentro de la célula. La deficiencia de hierro puede ser resultado de una dieta inadecuada, mala absorción, pérdida crónica de sangre, hemólisis intravascular con hemoglobinuria, el embarazo y la lactancia, o por la combinación de alguno de estos factores. El estado avanzado de su deficiencia se denomina ANEMIA POR DEFICIENCIA DE HIERRO y se caracteriza por disminución o ausencia de hierro almacenado, baja saturación de transferrina (medida por la capacidad de fijación del hierro) y baja concentración de hemoglobina o valor hematocrito, con microcitos e hipocromía. Debido a la deficiencia de hierro se presentan cambios en muchos tejidos del organismo. La hemosiderina y ferritina desaparecen de la médula y de otros sitios de almacenaje; esto disminuye la actividad de muchas proteínas importantes que contienen hierro como citocromo C y citocromo oxidasa entre otras. Algunas enzimas que no contienen o requieren hierro también reducen su actividad, de tal manera que los disturbios en el metabolismo celular pueden ocurrir en muchos tejidos en la deficiencia de hierro (2,4,5).

II.2 HEMOBLOGINA FETAL.

A. RELACION CON LAS HEMOGLOBINAS NORMALES.

La hemoglobina fetal (HbF) constituye el pigmento respiratorio presente durante la mayor parte del periodo de desarrollo intrauterino; su síntesis empieza probablemente alrededor de la sexta semana de gestación y alcanza un máximo (aproximado a 95%) entre las 12 a 34 semanas; - es entonces cuando comienza una disminución en sus porcentajes que en los recién nacidos normales representa de 60 a 80% (7) en general o de 49 a 93% en nuestra población - (8).

Se ha demostrado que durante el desarrollo normal del ser humano aparecen seis diferentes hemoglobinas (7), cuya estructura es un tetrámero de aproximadamente 65 kd con un grupo heme por cadena, siendo éstas de dos tipos : alfas (ζ zetas y α alfas) y no alfas (ϵ epsilon, δ^A gamma A, δ^G gamma G, δ delta y β beta). Las cadenas alfa constan de 141 aminoácidos y las no alfa de 146 (7,9). Estas cadenas están codificadas por ocho genes globínicos - funcionales que se hallan dispuestos en dos grupos génicos: los genes alfa localizados en el cromosoma 16 y los genes no alfa en el 11 (9) como se muestra en la figura 1.

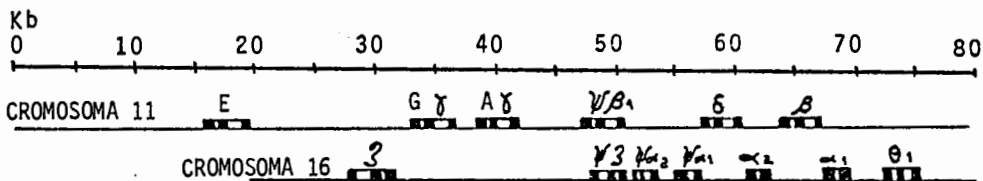


Fig. 1. Mapa de los genes globínicos alfa y no alfa.

La expresión de estos genes en el desarrollo normal del ser humano permite la formación de las seis diferentes hemoglobinas: Gower I, Gower II, Portland, fetal, A y A₂, las cuales difieren en el tipo de asociación entre las cadenas alfa y no alfa ($2\alpha + 2\alpha$) y se distinguen en tres grupos de acuerdo al período de aparición:

PERIODO	Embrionario	Fetal	Adulto
HEMOGLOBINAS	Hb Gower I ($3_2 E_2$)		Hb A ($\alpha_2 \beta_2$)
	Hb Gower II ($\alpha_2 E_2$)	Hb fetal ($\alpha_2 \gamma_2$)	
	Hb Portland ($3_2 \delta_2$)		Hb A ₂ ($\alpha_2 \delta_2$)

B. ONTOGENIA.

Durante la ontogenia de las hemoglobinas existen -

dos etapas en las que ocurre el fenómeno de activación-inactivación de genes globínicos: la etapa embrionaria, - en la cual el gen alfa sustituye al gen zeta ($\zeta \rightarrow \alpha$) y el gamma al epsilon ($\epsilon \rightarrow \gamma$), y la etapa perinatal cuando el gen beta reemplaza al gamma ($\gamma \rightarrow \beta$); este suceso no coin-

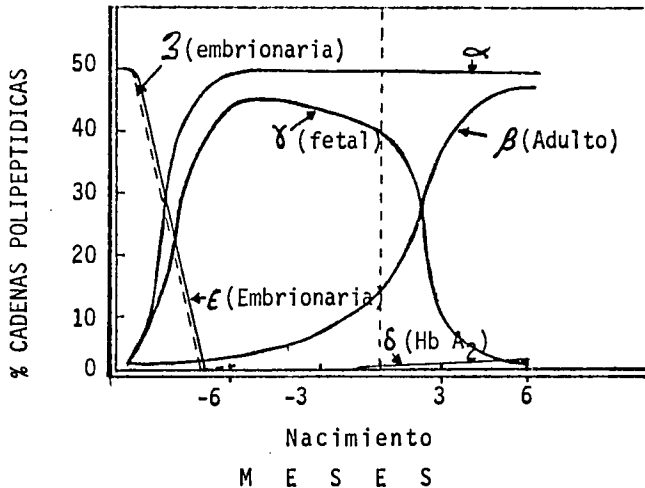


Fig. 2. Síntesis de cadenas globínicas durante el desarrollo pre y postnatal del humano.

cide con el sitio de la eritropoyesis, sino que parece estar relacionado con la edad ontogénica (7,10) como se aprecia en la figura 2.

La síntesis de las cadenas gamma que conforman la HbF inicia en la sexta semana de gestación y empieza a crecer a partir de la treintava semana aproximadamente - cuando es concertado el cambio en la producción de cadenas gamma por beta (fig. 2). Esto no implica la completa inactivación de los genes gamma ya que en el adulto nor-

mal se sintetizan bajos niveles de dichas cadenas (7).

La hemoglobina fetal es una mezcla de dos especies moleculares, una con glicina (γ G) y otra con alanina (γ A) en el aminoácido 136 y la razón de síntesis de cadenas γ G: γ A en niños normales al nacer es 3:1 y 2:3 en los adultos. (7,11).

C. ESTADOS ANORMALES DE LA HEMOGLOBINA FETAL.

Ha quedado bien establecido que en el adulto sano la HbF constituye menos del 2% de la masa hemoglobínica total y que el embarazo es el único estado no patológico donde se ha observado aumento en la síntesis de HbF (12); sin embargo se encuentra elevada en distintos trastornos hematológicos congénitos o adquiridos. Se han detectado una serie de condiciones hereditarias debidas a mutaciones que producen: a) defectos en la síntesis de una o más cadenas polipeptídicas como las talasemias beta y delta-beta o persistencia hereditaria de hemoglobina fetal o b) cambios de aminoácidos como la HbS (β 6 Glu-Val) que en estado homocigoto produce anemia drepanocítica. En condiciones no hereditarias, la síntesis de HbF puede ser reactivada postnatalmente en padecimientos adquiridos, principalmente aquellos que involucran deterioro en la eritropoyesis, entre ellos podemos distinguir padecimien-

tos no neoplásicos como expansión eritroide aguda, anemias refractarias, perniciosas y sideroblásticas tanto de adultos como infantiles como cánceres prostáticos, de vejiga y testiculares, eritroleucemias, leucemias, linfomas y mielomas que muestran elevación de HbF en un rango de 1.3 a 85% (7,11,13,14,15,16,17).

Se ha detectado un retraso en la disminución de los niveles de HbF postnatalmente en niños nacidos prematuramente así como en niños de madres diabéticas (2,7,18) y aquellos con trisomía D1 (trisomía 13) (2,7,19). En contraste, los niños con síndrome Down (SD) y con translocación C/D (6-12, X / 13-15) muestran síntesis precoz de Hb adulta y por lo tanto una más rápida disminución en los niveles de HbF (2,7). Además, se ha reportado elevación de HbF en Down (20).

Por otra parte, en algunos desórdenes hematológicos como leucemia mielógena crónica (fase aguda), leucemia mielógena aguda, policitemia vera, anemia refractaria y mieloesclerosis con o sin metaplasia mieloide se han observado alteraciones de los cromosomas 1, 5, 7, 8, 9, 17, 20 y 22. Algunas de estas alteraciones como la leucemia mieloide aguda y crónica han mostrado elevación de la HbF (2,16,17,21).

II.3 SINDROME DOWN.

A. ASPECTOS CLINICOS, CITOGENETICOS Y BIOQUIMICOS MAS RELEVANTES.

El síndrome Down (SD) es el más común y mejor conocido de los desórdenes cromosómicos. Fue descrito primeramente por Langdon Down en 1866 (22), pero no fue hasta 1959 cuando Lejeune, Gautier y Turpin observaron que los pacientes con SD tienen 47 cromosomas en lugar de los 46 usuales y que un cromosoma acrocéntrico pequeño presente en el grupo G es el causante de la trisomía (20,22).

El diagnóstico clínico no ofrece dificultad ya que el fenotipo de estos pacientes puede reconocerse en el momento del nacimiento. Presentan un cráneo ancho y corto, el rostro es mongólico, las fisuras palpebrales son oblicuas; hay mayor separación entre los ojos y éstos tienen en su parte interna un pliegue de piel característico; la nariz aparece aplanada y por la boca constantemente abierta hace protusión la lengua, más voluminosa que lo normal. Las manos son regordetas, con pliegue simiesco en la palma y un solo pliegue en el quinto dedo, presentan frecuentemente un hueco amplio entre el primero y segundo dedo del pie. Se caracterizan por debilidad general de las articulaciones, observada principalmente en to

billos. La estatura en promedio es baja; presentan retraso mental, trastornos neurológicos, alta susceptibilidad a infecciones respiratorias, tienden a desarrollar retinopatías y cerca de una tercera parte de los pacientes presentan malformaciones del corazón (22,23).

El SD se presenta con una frecuencia de aproximadamente 1/700 recién nacidos. La esperanza de vida es de 16.2 años y apenas el 8% de los pacientes sobreviven después de los 40 años (23). La mayoría de los pacientes, el 92.5%, presentan trisomía en el cromosoma 21, una proporción de 4.8% muestran una translocación que involucra al cromosoma 21, si bien, clínicamente son individuos similares a los que presentan trisomía regular, mientras que alrededor del 2.7% de los casos presentan trisomía 21 en mosaico, usualmente mosaicismo 46/47; estos pacientes tienen relativamente moderado estigma y tienen menor retraso que el trisómico típico (22,23). Estudios de familias con trisomía 21 parcial han permitido establecer que la región distal del brazo largo (21q22-21qter) es la responsable de la expresión fenotípica de la trisomía 21; sin embargo, estudios de bandeado cromosómico sugieren que solamente el triplicado de las subbandas 21q22 y 21q22.2 pueden ser las responsables del SD (24).

El riesgo de ocurrencia está principalmente en fun

ción de la edad materna, mientras que el de recurrencia - depende fundamentalmente del tipo de trisomía observada y en el caso de translocaciones familiares, del sexo del - progenitor portador. En las trisomías 21 regulares, el - riesgo de recurrencia es bajo y podría estimarse entre 1 a 2% independientemente de la edad materna (23). Si bien, el riesgo es menor en madres jóvenes los nacimientos a - edad materna temprana son muchos y el número de niños -- Down nacidos de madres jóvenes es bastante elevado. De - todos los niños Down nacidos de mujeres menores de 30 -- años, aproximadamente el 9% tienen translocación, mien- - tras que, de mujeres de más de 30 años, la proporción es sólo 1.5% (22).

Después de verificada la naturaleza cromosómica - del SD, este desorden cromosómico ha sido objeto de nume- rosos estudios. A la fecha, pocos genes han sido asigna- dos al cromosoma 21, entre otros, SOD-1-citoplasmática, - genes ARN ribosomales, fosfofructoquinasa, cistationina-- b-sintetasa, gene receptor interferon y fosforibosil-glicil- namida-sintetasa. Ensayos bioquímicos sobre fosforibosil- glicinamida y SOD-1-citoplásmica demostraron que estas en- zimas están presentes en una proporción 3:2 en líneas ce- lulares trisómicas 21 comparadas a líneas celulares nor-- males; sin embargo, estudios sobre la actividad del gene

cistationina-b-sistetasa no muestran el incremento esperado para líneas celulares trisómicas 21 (24). De la misma manera, numerosos estudios bioquímicos han demostrado niveles enzimáticos elevados, como por ejemplo de Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (localizada en el cromosoma X) y galactosa-1-fosfato-uridil transferasa (cromosoma 9) (20) entre otras; sin embargo, enzimas como la catalasa se encuentran normales (25).

Por otra parte, se ha reportado que este padecimiento presenta un alto riesgo de desarrollar leucemias (26,27,28), hematológicamente se ha observado macrocitos de origen desconocido (29,30,31), linfocitos disminuidos (20), leucopenia (31), así como trastornos en la concentración de la hemoglobina fetal (2,7,20).

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Después de ser verificada la naturaleza cromosómica del SD por Lejeune, Gautier y Turpin en 1959, este desorden cromosómico ha sido objeto de numerosos estudios - que han permitido caracterizar la enfermedad no ofreciendo dificultad su diagnóstico clínico (22,23).

Innumerables estudios cromosómicos y bioquímicos - describen alteraciones en el paciente con SD, entre otras se ha reportado elevación de HbF (20), anormalidades del eritrocito como macrocitos (29,30,31) y del leucocito - como leucopenia (31), así como alto riesgo de contraer -- leucemia en niños (26,27,28). Sin embargo, no conocemos_ reportes recientes de evaluaciones hematológicas, lo que nos lleva a plantear si los niños con SD presentan el mismo comportamiento hematológico que los niños normales, - así como confirmar o descartar la elevación de la HbF en los niños con SD.

IV. HIPOTESIS.

Los niños con SD tienen niveles diferentes tanto -
de los parámetros hematológicos como de HbF que los niños
sanos.

relacionado con el tema de la...

V. OBJETIVOS.

1. Conocer los niveles de HbF en niños con SD.
2. Conocer los niveles de glóbulos blancos y rojos, hemoglobina, hematocrito, volumen globular medio, hemoglobina corpuscular media y concentración media de hemoglobina en niños con SD.
3. Conocer los niveles de hierro, capacidad de fijación de hierro, vitamina B₁₂ y ácido fólico en niños con SD.
4. Conocer el comportamiento de los parámetros de -- los objetivos 1, 2 y 3 con respecto a la edad y al grupo control.

VI. MATERIAL Y METODOS.

M A T E R I A L

El presente estudio se realizó en un grupo de 83 niños con SD (43 masculinos y 41 femeninos) entre 5 y 150 meses de edad provenientes del Instituto Down de Occidente y como grupo control (C) 77 niños sanos (37 masculinos y 40 femeninos) hermanos de los afectados de 18 a 187 meses de edad.

Tanto el grupo SD como el grupo C fueron divididos de acuerdo a la edad en tres subgrupos: 1) lactante, de 0 a 36 meses; 2) preescolar, de 37 a 72 meses y 3) escolar, de 73 a 187 meses, con el propósito de observar si existen variaciones de los parámetros estudiados con respecto a la edad.

M E T O D O S

En ambos grupos, SD y C, se realizaron las siguientes determinaciones: cuantificación de HbF por los métodos de Betke (HbFB) y Sínger (HbFS); hierro (Fe) y capacidad de fijación de hierro (CFFe) mediante pruebas colorimétricas; índice de suturación (I_S) por fórmula; vitamina B₁₂ y folatos por radioinmunoanálisis y los valores de glóbulos blancos (GB), glóbulos rojos (GR), hemoglobina (Hb), hematocrito (Hto), volumen globular medio (VGM), hemoglobina corpuscular media (HCM) y concentración media -

de hemoglobina (CMHb) por la biometría hemática realizada en contador electrónico Modelo S. Para descartar alguna hemoglobinopatía se practicó electroforesis en acetato de celulosa a pH 8.4 y se cuantificó la hemoglobina A₂ - (HbA₂). La biometría hemática y las pruebas de Fe, CFFe, vitamina B₁₂ y folatos se realizaron en el departamento de Hematología y Medicina nuclear del Hospital de Especialidades del CMO, IMSS.

A. Obtención de la muestra.

Se tomaron 20 ml. de sangre por punción venosa de los cuales, 10 ml. se colocaron en tubos especiales para cuantificación de Fe y los 10 ml. restantes en tubos con anticoagulante EDTA al 10% para las otras determinaciones.

B. Preparación del hemolizado.

Se lavan los eritrocitos tres veces con solución salina 0.85% y se centrifuga a 3000 RPM. Por cada ml. de paquete eritrocítico se agrega 1 ml. de agua destilada y 0.4 ml. de Tetracloruro de Carbono, se agita vigorosamente y se centrifuga a 3000 RPM durante cinco minutos, se recupera el sobrenadante cuidando de no tocar los estromas.

C. Cuantificación de HbF.

La HbF tiene la propiedad de ser más resistente a

la desnaturalización por álcali que otras hemoglobinas, - por lo que los métodos para su cuantificación se fundamentan en la desnaturalización de la HbA y HbA₂ mediante un álcali, deteniendo la reacción con una sal de Amonio.

C.1. Método de Betke (32).

Se ajusta la hemoglobina del hemolizado a 5-8 gr/dl., se colocan 10 ml. de solución de Drabkin a pH 7.2 - (200 mg. de $K_3Fe(CN)_6$, 50 mg. de KCN, 140 mg. de KH_2PO_4 - para 1000 ml. de agua), se agregan 0.3 ml. (300 μ l.) de hemolizado y se mezcla. Se pipetea en tres tubos (dos - problemas y un control) 3 ml. de la mezcla anterior y se llevan a 20°C. A cada tubo problema se añaden 0.2 ml. de NaOH 1.28 N guardado previamente en congelación y se agita durante 20 segundos. A los dos minutos exactos se adicionan 2 ml. de solución saturada de Sulfato de Amonio a pH 7.0, se agita y se deja reposar 10 minutos. Al tubo - control se adicionan 0.2 ml. de agua destilada y 2 ml. de solución saturada de Sulfato de Amonio, se agita y se deja en reposo 10 minutos. Se filtra con papel filtro - - Schleicher & Schuell 589³. Se diluye 1 ml. de filtrado - control en 4 ml. de agua destilada. Las muestras se leen en espectrofotómetro a 540 nm. El porcentaje de HbF se - calcula mediante la fórmula:

$$\% \text{ HbF} = \frac{\text{D.O HbF}}{\text{D.O Hb control} \times 5} \times 100$$

C.2. Método de Singer (33).

En dos tubos problema se colocan 1.6 ml. de NaOH - 0.0833 N y se llevan a 20°C. Se adicionan 0.1 m. (100 μ l) del hemolizado y se agita durante 20 segundos; 40 segundos después se agregan 3.4 ml. de solución saturada de Sulfato de Amonio al 50% (400 ml. de solución saturada de Sulfato de Amonio + 400 ml. de agua destilada + 2 ml. de HCl 10 N) pH 3.6, se agita y se deja reposar por 30 minutos; posteriormente se filtra con papel filtro Schleicher & Schuell 589³. Al tubo control se le agregan 5 ml. de agua destilada y 20 μ l de hemolizado. Las muestras se leen a 540 nm. El porcentaje de HbF se calcula mediante la fórmula:

$$\% \text{ HbF} = \frac{\text{D.O. Hb F}}{\text{D.O. Hb total}} \times 0.203 \times 100$$

D. Electroforesis de hemoglobinas a pH 8.4 (34).

Las hemoglobinas normales tienen una carga neta - que permite diferenciarlas perfectamente a pH 8.4, un cambio de un aminoácido en cualquiera de las cadenas que modifique la carga neta de la molécula cambia el patrón -- electroforético correspondiente.

Se prepara una solución buffer con Tris-EDTA-Borato (10.2 gr Tris + 0.60 gr EDTA disódica + 3.2 gr ácido -

BIBLIOTECA DE LA FACULTAD DE...

bórico para 1000 ml. de agua destilada) a pH 8.4 en la -
cual se sumerge una membrana de acetato de celulosa durante
te 15 minutos, se seca con papel absorbente y se coloca -
en el soporte de la cámara (equipo microzona). Se aplicala
la muestra previamente hemolizada en posición catódica, -
se realiza el corrimiento a 200-400 V por 30 minutos, el
voltaje o el tiempo pueden ser modificados según se re -
quiera, pero el amperaje debe ser entre 2-4 MA. Una vez
concluido el corrimiento, la membrana se sumerge en colo-
rante Ponceau durante 5 minutos para revelar y se lava -
con ácido acético al 5% según el método de Schneider.

E. Cuantificación de Hb A₂ (35).

La cuantificación de Hb A₂ se logra por cromatografa
fa de intercambio iónico; dicha técnica se basa en el -
comportamiento ácido-básico de las proteínas, separando -
la Hb A₂ de la Hb total mediante un gradiente de pH.

La DEAE celulosa (DE-52) se lava tres veces con -
una solución amortiguadora pH 8.0 (7 ml. de TRIS 1 M + 25
ml. de KCN 4 mg/ml. + 700-800 ml. de agua destilada, se -
ajusta el pH con HCl 3 N y se afora a 1000 ml. con agua
destilada). La resina diluida en este amortiguador 1:10
v/v se empaca en pipetas Pasteur a una altura aproximadade
de 4 cm., se pasan 5 ml. de amortiguador pH 8.0 para - -

equilibrar la resina. Una gota de hemolizado se mezcla con 5 gotas de solución amortiguadora pH 8.0 y se coloca en la parte superior de la resina, una vez que la hemoglobina penetra en la resina se llena la parte superior de la pipeta con el amortiguador pH 8.0. La Hb A₂ se eluye con solución amortiguadora pH 7.4 (preparada de la misma forma que la anterior, ajustando a pH 7.4). La Hb restante se eluye con solución amortiguadora pH 7.0 (50 ml. de TRIS 1M + 25 ml. de KCN 4 mg./ml. + 700-800 ml. de agua destilada, se ajusta el pH con HCl 3N y se afora a 1000 ml. con agua destilada). La elución de Hb A₂ y Hb remanente se aforan a 5 ml. y 25 ml. respectivamente con agua. Se mide la densidad óptica a 415 nm y se obtiene el porcentaje por la fórmula:

$$\% \text{ Hb A}_2 = \frac{\text{D.O Hb A}_2}{\text{D.O Hb A}_2 + (5 \times \text{D.O Hb R})} \times 100$$

Hb R = Hb restante.

F. Hierro sérico y capacidad sérica de fijación de hierro (36).

F.1. Hierro sérico.

La dosificación de hierro se realiza con el método de Beale, Bostrom y Taylor modificado por Loria. El hierro unido a transferrina es separado de ella por la adi-

ción de un buffer ácido (pH 1.9) y reducido simultáneamente a la forma ferrosa por el ácido ascórbico presente en el buffer. El hierro ferroso libre reacciona con el agente cromógeno (Batofenantrolina) para obtener así la concentración de hierro del suero.

F.2. Capacidad de fijación total.

La transferrina libre del suero se satura con una solución de hierro, quedando un exceso de hierro; este hierro no fijado por transferrina es adsorbido por el Carbonato de Magnesio, quedando en el sobrenadante exclusivamente hierro unido a transferrina. La dosificación de hierro de este sobrenadante nos da la capacidad total de fijación de hierro del suero.

G. Índice de saturación.

Se obtiene por la siguiente fórmula:

$$\left(\frac{\text{Fe} \times 100}{\text{Capacidad de fijación de hierro}} \right)$$

H. Radioinmunoanálisis (RIA). Kit de Diagnostic Products Corporation (DPC)

El método de RIA es el más adaptable y sensible de todos los que utilizan antígenos o haptenos marcados ra--

diactivamente, permite determinar vestigios de concentraciones de cualquier sustancia que se comporte como antígeno o como hapteno. Se basa en la competencia establecida entre un ligando indicador radioactivo que se usa como estándar y un ligando no marcado por unirse a un anticuerpo.

Las determinaciones para la cuantificación de la vitamina B₁₂ y folatos se realizaron por la versión moderna del clásico método de RIA para vitamina B₁₂ conocida como SOLID PHASE NO BOTTLE DUALCOUNT de DPC.

VII. RESULTADOS.

Con los valores de las diferentes variables estudiadas (15) en el grupo SD y C se formó una base de datos los cuales fueron procesados de acuerdo con el programa - PCSC para fines estadísticos descriptivos y de inferencia. Los datos se sometieron a análisis de varianza (AV) y se procesaron por las categorías de grupo, sexo y edad. En este análisis global la Hb A₂ y la CFFe no mostraron diferencias para ninguna categoría; el Fe e IS mostraron diferencias sólo por sexo, las variables de HbFB y HbFS, vitamina B₁₂, folatos, GB y CMHb mostraron diferencias únicamente por edad y las variables GR, Hb, Hto, VGM y HCM mostraron diferencias por grupo y por edad.

De las 15 variables estudiadas, 11 presentaron diferencias de acuerdo a la edad (menos Hb A₂, CFFe, Fe e IS) por lo que los resultados se presentan como grupos - únicos SD y C distribuidos en 3 subgrupos de edad: 1) de 0 a 36 meses; 2) de 37 a 72 meses y 3) de 73 a 150 para el grupo SD y 187 para el grupo C.

En la tabla 1 se presentan los valores obtenidos - en ambos grupos para la HbFB, HbFS, vitamina B₁₂ y folatos en la que puede observarse que en el grupo SD la HbF_ por ambos métodos mostró valores más elevados en los tres subgrupos de edad comparados con el grupo C; sin embargo, y en concordancia con el análisis de varianza, la "t" de

BIBLIOTECA DE LA FACULTAD DE MEDICINA

Student no mostró diferencias estadísticamente significativas excepto el subgrupo 3 para HbFS, lo cual se debe probablemente a que este método sobreestima un poco los valores reales; por otra parte las pruebas de correlación entre la HbF y la edad son significativas tanto en el grupo SD como en el C, excepto el grupo C contra HbFS. Los valores de vitamina B₁₂ y folatos también se muestran en esta tabla y puede observarse que los niveles de vitamina B₁₂ son más elevados en los subgrupos 1 y 2 en C que en SD y los folatos más elevados en el subgrupo 1 en SD que en C; sin embargo, como en el AV, la "t" de Student no mostró diferencias estadísticamente significativas, mientras que la correlación contra edad fue significativa para las dos variables.

En las figuras 3, 4, 5 y 6 se presentan los valores en forma de barras para cada uno de los subgrupos; puede observarse que la HbF en ambos grupos y por ambos métodos muestran los cambios que ocurren con la edad con tendencia a disminuir; esto se observa también para la vitamina B₁₂ y los folatos en el grupo SD, mientras que en el grupo C el comportamiento para la vitamina B₁₂ y folatos es similar, se eleva en el subgrupo 2 y disminuye en el 3; en ambos casos a valores más bajos que en el primer subgrupo.

Los valores para GB, GR, Hb, Hto, VGM, HCM y CMHb_

BIBLIOTECA DE LA FACULTAD DE MEDICINA

obtenidos de los grupos SD y C se presentan en la tabla 2. La variable GB mostró valores más elevados para los tres subgrupos en C que en SD; sin embargo, tanto el AV como la "t" de Student no mostró diferencias significativas; la correlación por la edad sólo fue significativa para el grupo control; la CMHb fue similar en los dos grupos y en los tres subgrupos; por lo tanto sin diferencias significativas por AV y "t" de Student, la correlación por la edad fue significativa para ambos grupos; los GR fueron más elevados para los tres subgrupos en el grupo C que en SD, en este caso el AV mostró diferencia significativa por grupo ($p=0.019$) la cual no se observó al comparar los subgrupos por la "t" de Student, la correlación con la edad sólo fue significativa para el grupo SD; la Hb y el Hto presentan valores similares para el grupo SD y C en el subgrupo 1, mientras que en los subgrupos 2 y 3 los valores en el SD son más elevados que en el C, en el AV se observaron diferencias por grupos y la "t" de Student muestra diferencias significativas para Hb en el subgrupo 2 y para Hb y Hto en el subgrupo 3, la correlación por la edad fue altamente significativa para ambas variables en los 2 grupos; finalmente, las variables VGM y HCM mostraron valores más elevados en el grupo SD que en el C para los tres subgrupos, el AV mostró diferencias significativas por grupo y las diferencias con la "t" de Student fue

BIBLIOTECA DE LA FACULTAD

ron altamente significativas para los subgrupos 2 y 3 y - no para el subgrupo 1, la correlación con la edad fue significativa para ambas variables en los dos grupos.

En las figuras 7 a 13 se presentan los valores de las 7 variables anteriores en forma de barras en los dos grupos estudiados. En la figura 8 se observa que los valores de los GB muestran una tendencia a disminuir conforme avanza la edad en ambos grupos; en los GR (fig.7) no se observa cambio con la edad en el grupo C, en el grupo SD hay tendencia a valores altos lo cual explica la falta de correlación con la edad en el grupo control; para Hb y Hto se observa en ambos casos incremento con la edad tanto para SD como para el C (figs. 9 y 10); en la figura 12 se observa un comportamiento similar para CMHb tanto en el SD como en el grupo C: y las figuras 11 y 13 representan el comportamiento con la edad y las diferencias entre los grupos de las variables VGM y HCM, para ambas, en el grupo C hay una tendencia a aumentar y en el grupo SD esta tendencia sólo se observa del subgrupo 1 al 2 ya que los subgrupos 2 y 3 son similares.

Debido a que el Fe y el IS en el AV sólo mostraron diferencias por sexo, en la tabla 3 se presentan estos valores desglosados además de acuerdo a los tres subgrupos de edad; en esta tabla se observa que en los subgrupos 1

BIBLIOTECA DE LA FACULTAD

y 3 los valores de los niños son mayores que los de las niñas, lo cual se observa a la inversa en el subgrupo 2, este fenómeno es similar en ambos grupos.

La electroforesis de hemoglobinas en todos los casos estudiados fue normal.

Los valores de P y "t" para el AV, "T" de Student_ y correlación se presentan en el apéndice 1.

BIBLIOTECA DE LA UNIVERSIDAD

TABLA 1. Valores de HbF por los métodos de Betke y Sfinger y de vitamina B₁₂ y Folatos representados como \bar{X} - S de los grupos Down y control. (n)

Subgrupo de edad	HbFB %	HbFS %	Vitamina B ₁₂ pg/ml	Folatos ng/ml
G R U P O D O W N				
1	2.2-1.2 (14)	2.6-2.6 (14)	744-245 (7)	19-6.3 (4)
2	1.5-1.9 (18)	1.7-1.4 (20)	555-352 (17)	15-10.5 (11)
3	0.9-0.4 (42)	1.2-0.5 (38)	508-234 (34)	10-4.8 (26)
G R U P O C O N T R O L				
1	1.6-1.2 (7)	1.7-1.2 (6)	768-150 (4)	13-3.7 (4)
2	0.9-0.5 (12)	1.3-0.4 (12)	787-288 (10)	15-6.0 (6)
3	0.8-0.5 (45)	1.7-0.6 (45)	505-254 (43)	11-4.5 (23)

TABLA 2. Valores hematológicos de los grupos
Down y control representados como -

$$\bar{X} - S.
(n)$$

Subgrupo de edad	GB 10^3 xmm^3	GR $\times 10^{12} \text{ xL}$	Hb g/dl	Hto %	VGM fl	HCM pg	CMHb g/dl
G R U P O D O W N							
1	7.8-2.7 (14)	4.5-0.4 (14)	12.4-1.4 (14)	38-3.0 (14)	85-8.8 (14)	28-3.9 (14)	32-1.7 (14)
2	6.9-2.6 (22)	4.7-0.3 (21)	14.0-1.0 (22)	42-2.6 (22)	90-6.2 (21)	30-1.7 (21)	33-0.8 (22)
3	6.6-1.9 (45)	4.8-0.3 (45)	14.6-1.1 (45)	44-3.3 (45)	91-4.2 (45)	30-1.6 (45)	33-0.9 (45)
G R U P O C O N T R O L							
1	10.2-3.2 (9)	4.9-0.5 (9)	12.5-0.9 (9)	39-2.1 (9)	80-6.1 (9)	26-2.2 (9)	32-0.7 (9)
2	7.0-1.7 (12)	4.9-0.5 (12)	13.1-1.2 (12)	40-3.3 (12)	81-2.7 (12)	27-1.1 (12)	33-0.9 (12)
3	6.9-1.9 (44)	4.9-0.3 (44)	14.1-0.8 (44)	42-2.0 (44)	86-4.0 (44)	29-1.9 (44)	33-1.0 (44)

TABLA 3. Valores de Hierro ($\mu\text{g}\%$) (superior) y valores de índice de saturación (%) en los grupos Down y control representados como -

$$\frac{\bar{x} - s}{(n)}$$

Subgrupo de edad	GRUPO DOWN		GRUPO CONTROL	
	M	F	M	F
1	106-30 (4)	73-39 (6)	107-22 (4)	70-35 (2)
2	103-19 (10)	120-47 (10)	95-24 (5)	99-20 (7)
3	126-26 (18)	99-33 (18)	106-27 (22)	94-29 (21)

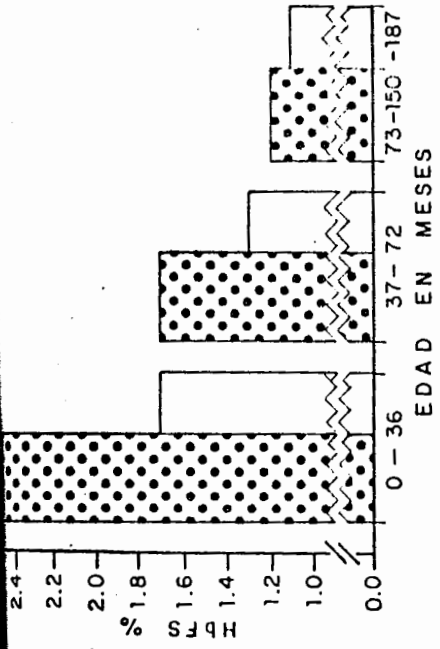
1	31.7-11.2 (4)	18.0-10.2 (6)	27.8-8.0 (4)	17.0-3.0 (2)
2	26.9-6.4 (10)	33.7-12.0 (10)	27.4-9.2 (5)	27.6-3.4 (7)
3	35.4-6.5 (18)	28.4-9.6 (18)	29.6-9.0 (22)	26.6-8.5 (22)

Fig. 3 Valores de HbF por el método de Betke en los 3 subgrupos de edad.

Fig. 4 Valores de HbF por el método de Sínger en los 3 subgrupos de edad.

Fig. 5 Valores de vitamina B₁₂ en los subgrupos de edad.

Fig. 6 Valores de folatos en los 3 subgrupos de edad.



DOWN
CONTROL

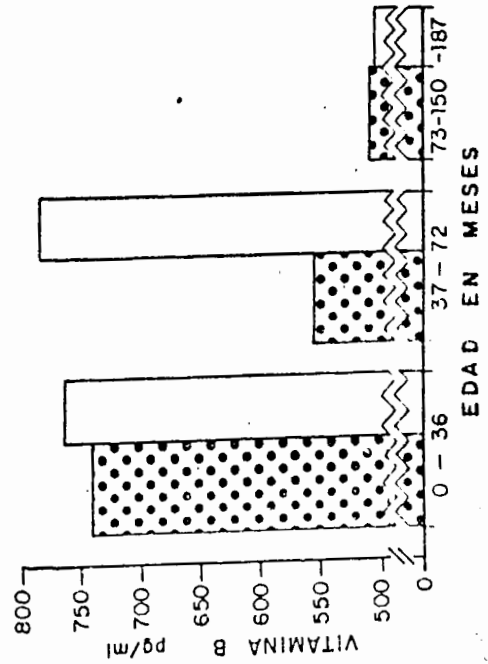
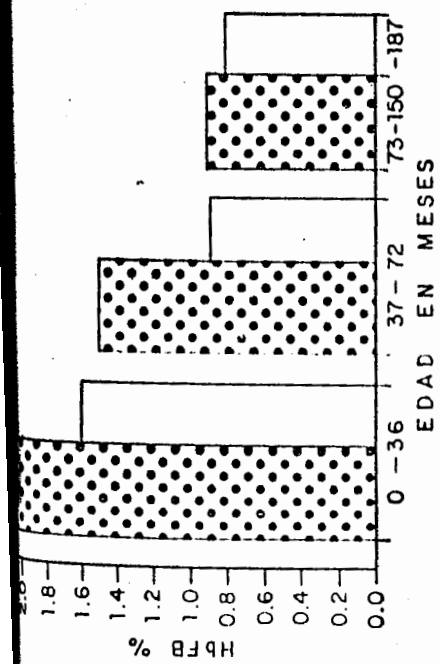
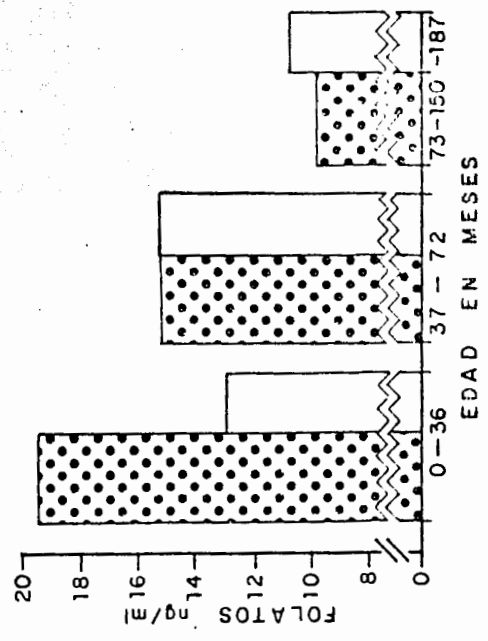
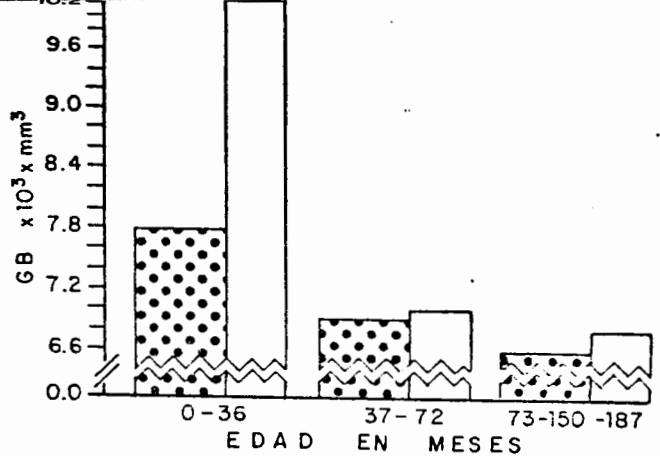
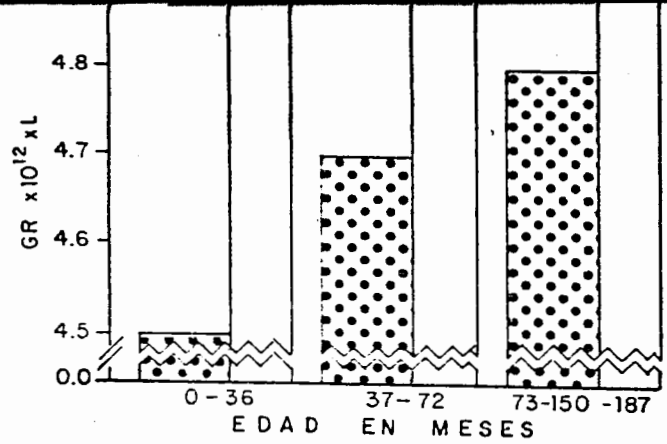




Fig. 7 Valores de glóbulos rojos
en los 3 subgrupos de -
edad.

Fig. 8 Valores de glóbulos blancos
en los 3 subgrupos de - -
edad.

Fig. 9 Valores de Hemoglobina
en los 3 subgrupos de
edad.

Fig. 10 Valores de Hematocrito
en los 3 subgrupos de
edad.



 DOWN
 CONTROL

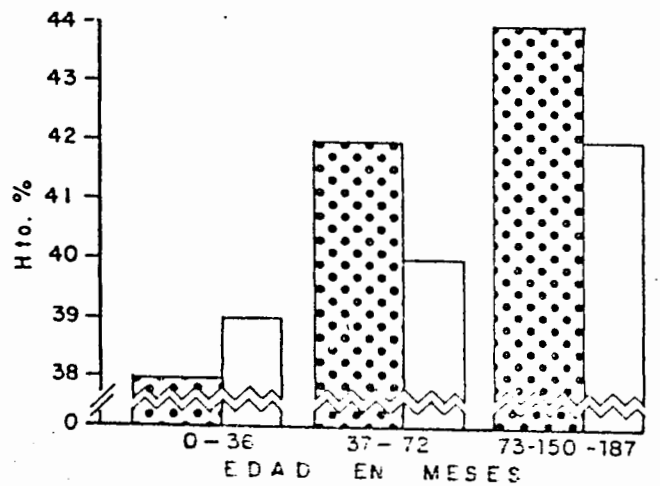
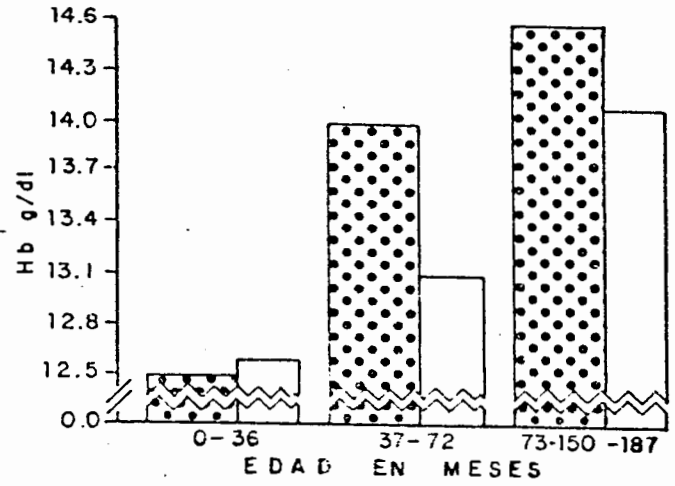


Fig. 11 Valores de VGM en
los 3 subgrupos -
de edad.

Fig. 12 Valores de CMHb en
los 3 subgrupos -
de edad.

Fig. 13 Valores de HCM en
los 3 subgrupos -
de edad.

IP/6 CMHB g/dl

32 0

EDAD EN MESES
0-36 37-72 73-150 -187

DOWN CONTROL

VGM $\bar{1}$

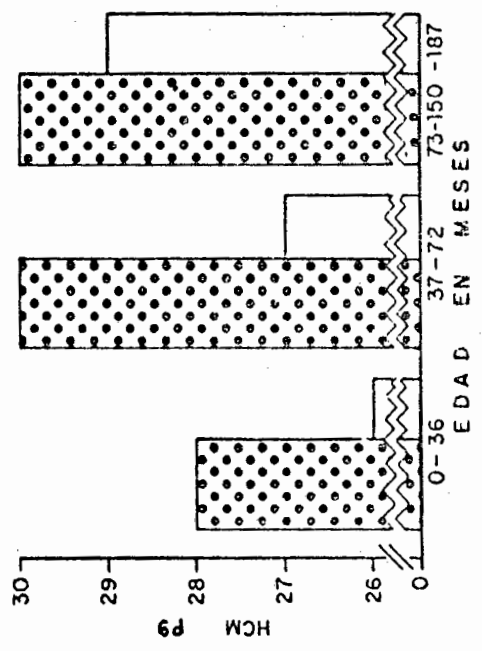
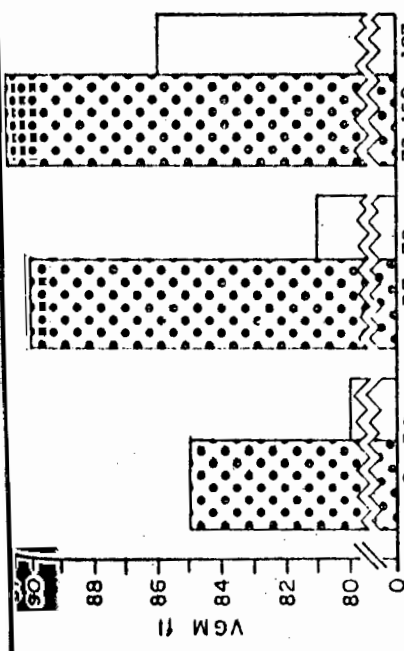
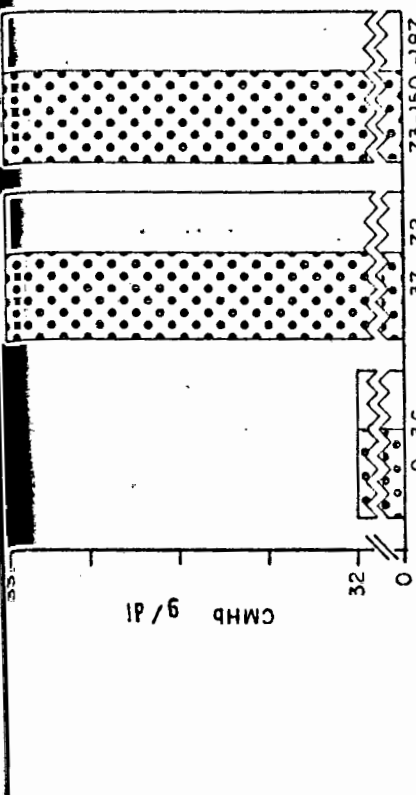
90 88 86 84 82 80 0

EDAD EN MESES
0-36 37-72 73-150 -187

HCM P9

30 29 28 27 26 0

EDAD EN MESES
0-36 37-72 73-150 -187



Variable	Análisis de Varianza		"t" Student (subgrupos)			Correlación con edad	
	Grupo	Sexo Edad	1	2	3	Down	Control
HbFB		< 0.0001	NS	NS	NS	0.0011	0.029
HbFS		< 0.0001	NS	NS	0.001	0.0033	NS
Vitamina B ₁₂		0.002	NS	NS	NS	0.0214	< 0.0001
Folatos		0.004	NS	-	NS	0.0008	0.0119
GB		0.011	NS	NS	NS	NS	0.0041
GR	0.019	0.028	NS	NS	NS	0.0063	NS
Hb	0.006	< 0.0001	NS	< 0.05	< 0.02	< 0.0001	< 0.0001
Hto	0.001	< 0.0001	NS	NS	< 0.01	< 0.0001	< 0.0001
VGM	0.0001	< 0.0001	NS	< 0.001	< 0.001	0.0105	< 0.0001
HCM	0.0001	< 0.0001	NS	< 0.001	< 0.01	0.0028	< 0.0001
CMHb		< 0.0001				0.0277	0.0175
Fe		0.017					
IS		0.027					

APENDICE I. Valores de P para las pruebas estadísticas utilizadas.

VIII. DISCUSSION.

El análisis de la HbF (figs. 3 y 4) en los niños estudiados revela un comportamiento similar al fenómeno - ampliamente conocido de inactivación de los genes gamma - en la etapa postnatal, iniciada desde el período fetal in útero. Debido a que en los grupos estudiados no se inclu yó un número significativo de niños entre los seis primeros meses de vida, el fenómeno de desaparición más rápida de HbF en los niños con SD en esta etapa (2,7) no pudo - ser investigada. Por otra parte en el presente estudio - se descarta la elevación de HbF en SD ya que tanto el AV como la "t" de Student no mostraron diferencias significa tivas en ambos grupos.

En el grupo SD, un niño de seis años mostró HbF - elevada, misma que se observó en su hermana control de - 1.5 años; el estudio familiar permitió el diagnóstico de - una alteración de la Hb en base a parámetros hematológi-- cos y clínicos normales y HbF elevada en la madre, cono-- cido como Persistencia Hereditaria de Hemoglobina Fetal . (tabla 4).

Si bien para la vitamina B₁₂ y folatos no se obser- varon diferencias significativas en ambos grupos, es inte- resante señalar que el comportamiento de acuerdo con la - edad es diferente para las dos variables tanto en SD como en C. (figs. 5 y 6) siendo relevante el hecho de que los

folatos en el subgrupo 1 del grupo SD fueron más elevados que en el control, mientras que en el subgrupo 3 es a la inversa, con diferencias no significativas debido probablemente a la n del subgrupo 1.

Las diferencias observadas por sexo en ambos grupos para Fe e IS no han sido descritas previamente en nuestra población y pudiera ser debido a factores inherentes al desarrollo (hormonales, metabólicos u otros) o bien, tratarse de un artificio por la n (tabla 3).

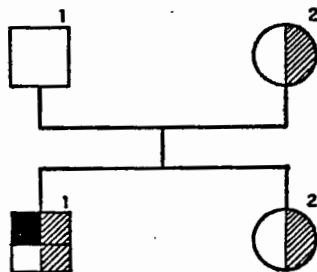
Akin en 1988 (31) reportó leucopenia en pacientes con SD. En nuestro estudio, el grupo SD presentó valores inferiores al grupo control de GB; sin embargo no se reportaron diferencias significativas, lo que sugiere que la leucopenia no es un fenómeno general en el SD, o bien que las condiciones de los pacientes estudiados por Akin fueron diferentes a la de los niños del presente estudio.


Los valores de GR, Hb, Hto y VGM son similares a los reportados por Romero y colaboradores (37) en niños de nuestra población. Las diferencias más relevantes se observaron para VGM y HCM siendo los valores en el grupo SD más elevados que en el grupo control (AV $P < 0.0001$, "t" de Student $P < 0.001$) lo que permite explicar que el SD presente menor cantidad de GR y más Hb y Hto (GR, Hb y

Hto, AV $P=0.019$, <0.006 y <0.001 respectivamente). La macrocitosis (VGM y HCM elevados) en el SD ha sido descrita por Naiman en 1965 (29) en 12 pacientes adultos, por Eastham en 1969 (30) en 92 adultos con SD y por Akin en 1988 (31) en 15 adultos y 7 niños (para quienes reporta valores normales de vitamina B_{12} y folatos); el presente trabajo realizado en 83 niños, corrobora la asociación entre SD y macrocitosis; esta condición se ha observado debida a deficiencia de vitamina B_{12} , folatos y a otras causas como errores innatos del metabolismo, anemia refractaria megaloblástica de etiología desconocida, idiopática y secundaria a ingestión de drogas que interfieren con la síntesis del ADN (2). En nuestro estudio no se observó correlación entre VGM y HCM con vitamina B_{12} y folatos, así como tampoco se presentó ningún caso con deficiencia de estos factores; sin embargo, pudiera ser relevante el hecho de que el grupo SD presentó valores más elevados de folatos que el grupo control en el subgrupo 1 (sin diferencia estadística) y que esta elevación pudiese ser debida a un bloqueo en el metabolismo del ácido fólico y por lo tanto la macrocitosis se debiera a la deficiencia de otro metabolito de la misma vía metabólica. Lejeune en 1979 (38) describió una alteración de la vía del metabolismo del ácido fólico, específicamente en la conversión de ácido fólico a ácido folínico mediante la

enzima dihidrofolato-reductasa, por lo que se destaca la importancia del estudio de esta vfa metabólica en SD ya - que un bloqueo en ella, si bien no manifiesta repercusiones hematológicas a excepción de la macrocitosis, puede - ser relevante para el desarrollo del sistema nervioso cen-
tral.

TABLA 4.



 SD

 PHHF

	HbF (B) %	HbF (S) %	Ce1.F %	HbA ₂ %	Electrof. Hbs	Hb g/dl	VGM fl	HCM pg
I-1	0.52	1.2	0.14	3.9	Normal	17.2	94	32.3
I-2	1.2	3.2	1.66	3.0	"	13.2	93	30.8
II-1	3.33	3.55	5.3	3.5	"	14.9	101	31.8
II-2	3.77	5.37	5.61	3.2	"	11.1	79	25.7

IX. CONCLUSIONES.

1. La HbA₂ y CFFe no mostraron diferencias significativas para ninguna categoría (grupo, sexo, edad).
2. El Fe e IS mostraron diferencias únicamente por sexo.
3. La HbFB, HbFS, Vitamina B₁₂, Folatos, GB y CMHb mostraron diferencias únicamente por edad.
4. La concentración de HbF es normal en niños con SD.
5. El comportamiento de acuerdo con la edad de la vitamina B₁₂ y Folatos es diferente en los niños con SD y niños sanos.
6. Los niños con SD estudiados muestran niveles normales de Leucocitos.
7. Las variables GR, Hb, Hto, VGM y HCM mostraron diferencias tanto por grupo como por edad.
8. Los niveles de GR se encuentran disminuidos en los niños con SD.
9. Las variables Hb, Hto, VGM y HCM muestran valores más elevados en el grupo Down.
10. La macrocitosis es una condición asociada con SD, la cual conduce a una disminución de los niveles de GR y la elevación de Hb y Hto en los niños con SD.

11. La macrocitosis observada en el presente estudio no es debida a la presencia de anemia por - deficiencia de vitamina B₁₂ o folatos.

X. BIBLIOGRAFIA.

1. Guyton A.C.; Tratado de Fisiología Médica. Edit. Interamericana; 6a. edición. México, D. F. 1986.
2. William J.W., Beutler E., Erslev A. J., Rundles R.W. : Hematology. McGraw-Hill Book Company; 2a. edición. New York, 1977.
3. Leeson C.R., Leeson T.S.: Histología. Edit. Interamericana; 5a. edición. México, D. F. 1986.
4. Martín D.W., Mayes P.A., Rodwell V.W.: Bioquímica de - Harper. El Manual Moderno; 9a. edición. México, D.F. 1984.
5. Lehninger A.L.: Bioquímica. Ediciones Omega; 2a. edición. Barcelona. 1985.
6. Toporek M.: Bioquímica. Edit. Interamericana. México , D.F. 1984.
7. Bunn H.F., Forget B.G.: Hemoglobin: Molecular, Genetic and Clinical Aspects. W.B. Saunders Company; 2a. edición. Philadelphia. 1986.
8. Ibarra B., Torres-Oliva A., Romero F., García-Cruz D., Hernández de Alba M., Galarza M., Martínez-Orozco L.C., Franco-Gamboa E., Cantú J.M.: Hemoglobina fetal y relación de cadenas γ^G / γ^A en la detección de alteraciones de cadenas γ en el recién nacido. Sangre, 31: 693-697. 1986.

9. Deisseroth A., Vélez R., Nienhuis A.W.: Hemoglobin - Synthesis in somatic cell hybrids: Independent Segregation of the human alpha and beta-globin genes. - - Science 191 : 1262. 1976.
10. Peschle C., Mavilio F., Care A., et al.: Haemoglobin_ switching in human Embryos: A synchrony of $\zeta \rightarrow \alpha$ and $\epsilon \rightarrow \gamma$ globin switches in primitive and definitive - erythropoietic lineage. Nature 313:235-238. 1985.
11. Wood W.G., Weatherall D.J.: Developmental genetics of the human haemoglobins. Biochem J. 215: 1-10. 1983.
12. Villegas A., Alvarez Salas J.L., Martínez R.: Método_ recomendado por el ICSH para la determinación de la - Hemoglobina Fetal. Sangre 28. 796. 1983.
13. Newman D.R., Pierre R.V., Linman J.W.: Studies on the diagnostic significance of hemoglobin F. Levels. Mayo Clin Proc. 48:199-202. 1973.
14. Olivares-Esquer J.J., Ortiz-Lazcano S., Aguirre Gas - H., Cervantes-Osorio L.F., González-Llaven J.: Elevación de la Hemoglobina Fetal en padecimientos neoplásicos. Arch. Invest. Med. (Mex.) 6:413-418. 1975.
15. Weatherall D.J., Clegg J.B., Wood W.G., Callender - - S.T.: Foetal erythropoiesis in human leukaemia. Nature 257:710-712. 1975.

16. Becerra J.C.; Evaluación de la actividad de los genes globínicos gamma en pacientes con neoplasias. Tesis - de Licenciatura en Biología. Universidad de Guadalajara. 1986.
17. Montes J.: Evaluación de la Hemoglobina Fetal en niños con diferentes tipos de neoplasias. Tesis de Licenciatura en Químico Farmacobiólogo, Universidad de Guadalajara. 1988.
18. Perrine S.P., Greene M.F., Faller D.V.: Delay in the fetal globin switch in infants of diabetic mothers. - New Engl. Med. 312:334-338. 1985.
19. Bard H.: Postnatal Fetal and Adult Hemoglobin Synthesis in D₁ Trisomy Syndrome. Blood 40:523-527. 1972.
20. Rosner F., Ong B.H., Paine R.S., Mohanand D.: Biochemical differentiation of trisomic Down's syndrome - - (mongolism) from that due to translocation. New Engl. Med. 273:1356-1361. 1965.
21. Rowley J.D.: The role of Citogenetics in Hematology. - Blood 48:1#7. 1976.
22. Thompson J.S., Thompson M.W.: Genetics in Medicine. - W.B. Saunders Company. Philadelphia, London, Toronto. 1980.

23. Gufzar-Vázquez J.J.: Genética Clínica. Diagnóstico y Manejo de las enfermedades hereditarias. Manual Moderno; 1a. edición. México, D. F. 1988.
24. Lorraine S., Galt J., Palmer A., Affara N., Ferguson-Smith M., Nevin N.C.: Expression of chromosome 21 -- specific sequences in normal and Down's Syndrome tissues. Nucleic Acids Res. 16:2885-2896. 1988.
25. Kedziora J., Bartosz G., Gromadzinska J., Skłodowska M., Wesowic W., Scianowski J.: Lipid Peroxides in - - blood plasma and enzymatic antioxidative defence of - erythrocytes in Down's syndrome. Clin. Chim. Acta 154: 191-194. 1986.
26. Honda F., Punnet H., Charney E., Miller G., Thiede -- H.A.: Señal Citogenetic and hematologic studies on a mongol with trisomy 21 and acute congenital leukemia. J. Ped. 65:880-887. 1964.
27. Rowley J.D.: Down Syndrome and acute leukaemia: in- - creased risk may be due to trisomy 21. Lancet II: - - 1020. 1981.
28. Robinson L.L., Nesbit M.E., Sather H.N., Level C., -- Shadini N., Kennedy A., Hammond D.: Down Syndrome and acute leukemia in children. A 10- year retrospective_ survey from childrens. Cancer Study Group. J.Ped.105: 235-242. 1984.

29. Naiman J.L., Oski F.A., Mellman W.J.: Phosphokinase - Activity of erythrocytes in mongolism. Lancet I:821 . 1965.
30. Eastham R.D., Juncar J.: Macrocytosis in Downs' Syn--drome. Lancet I:895. 1969.
31. Akin K.: Macrocytosis and Leukopenia in Down's Syn--drome. JAMA 259:842. 1988.
32. Betke K., Marti H.R., Schlicht I.: Estimation of - - small percentage of foetal haemoglobin. Nature 184: _ 1877-1878. 1959.
33. Singer K., Chernoff A.I., Singer L.: Studies on - -- abnormal hemoglobins. Their demonstration in sickle - cell anemia and other hematological disorders by means of alkali denaturation. Blood 6:413. 1951.
34. Schneider R.G.: Differentiation of electrophoresis - similar hemoglobins such as S,D,G and P or A₂, C, E - and O by electrophoresis of the globin chains. Clin.-Chem. 20:1111. 1974.
35. Efremov G.D., Huisman T.H.J., Bowman K., Wrightstone R.N., Schoeder N.A.: Michrochromatography by hemoglo- bins. II a rapid michrochromatography method for the_ determination of hemoglobin. A₂. J. Lab. Clin. Med. - 83:657-664.1974.

36. Loria A., Monge B.: Técnicas de dosificación de Hierro y de capacidad de fijación. Rev. Invest. Clin. - 10:429. 1968.
37. Romero García F., Moller M., García Loera M., Hurtado de Mendialdua F., Sotomayor Martín del Campo J.M., - Martínez y Martínez G., García de Alba J., Flores S., González R.M., Ibarra B.: Valores de referencia de la serie roja en una población sana de 0 a 15 años, residente de 1.540 metros de altitud. Sangre. 25: 559-566. 1980.
38. Lejeune J.: Investigations biochimiques et trisomie - 21. Ann. Genet., 22:67-75. 1979.



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
FACULTAD DE CIENCIAS

Expediente

Número 550/89

SRITA. CAROLINA ENRIQUEZ SANDOVAL
P R E S E N T E . -

Manifiesto a usted que con esta fecha ha sido -
aprobado el tema de Tesis "HEMOGLOBINA FETAL Y VALORACION -
HEMATOLOGICA EN NIÑOS CON SINDROME DE DOWN" para obtener -
la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo informo a usted que ha sido ---
aceptada como Directora de dicha Tesis la Dra. Ma. de Lour-
des Ramírez Dueñas.

A T E N T A M E N T E
"PIENSA Y TRABAJA"
Guadalajara, Jal., Mayo 30 de 1989

EL DIRECTOR

ING. ADOLFO ESPINOZA DE LOS MONTEROS CARDENAS.



FACULTAD DE CIENCIAS

EL SECRETARIO

M. EN C. ROBERTO MIRANDA MEDRANO

c.c.p. La Dra. Ma. de Lourdes Ramírez Dueñas, Directora de Tesis. Pte.
c.c.p. El expediente de la alumna.

'mjsd

Al contestar este oficio cítese fecha y número

Guadalajara, Jal; 14 de Agosto 1989.

Ing. Adolfo Espinoza de los Monteros Cárdenas.

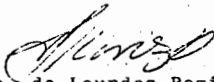
Director de la Facultad de Ciencias
Universidad de Guadalajara.

P r e s e n t e.

Habiendo realizado las observaciones pertinentes al trabajo de -
tesis que presenta la C. Carolina Enriquez Sandoval, considero -
que puede imprimirse, por lo que pido a Usted permita se reali--
cen los trámites para el exámen correspondiente.

Sin más por el momento, agradezco las atenciones que se sirva -
brindar a la presente.

A t e n t a m e n t e



Dra. Ma. de Lourdes Ramírez Dueñas
Genetista.

Directora de Tesis.