

081328218

Universidad de Guadalajara

FACULTAD DE CIENCIAS



CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

DETECCION DE HEMOGLOBINA TARRANT EN UNA MUESTRA
SELECCIONADA DE LA POBLACION DE AMECA, JALISCO.

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGIA
P R E S E N T A
EVA JUDITH HUESO GUERRERO
GUADALAJARA, JAL., 1989

DETECCION DE HEMOGLOBINA TARRANT EN UNA MUESTRA SELECCIONADA DE LA
POBLACION DE AMECA, JALISCO

DEDICATORIA

A todas aquellas personas, que uno u otro modo apoyan o han apoyado a esas otras personas, con interes por buscar respuestas a sus inquietudes.

AGRADECIMIENTOS

UNIDAD DE INVESTIGACION BIOMEDICA DE OCCIDENTE DEL I.M.S.S. Por las facilidades de laboratorio, literatura y asesoria, otorgadas al presente trabajo.

CLINICA 24 DEL I.M.S.S. de Ameca, Jalisco. Por la donación de muestras de sangre, la cooperación y facilidades para la realización del presente trabajo.

LABORATORIO DE BIOQUIMICA II DE LA DIVISION DE GENETICA. Por la asesoria, apoyo, utilización de aparatos en general, material y donación de reactivos, por las facilidades prestadas a la realización de la presente tesis.

MED. JOSE MARIA CANTU GARZA. Por el interes mostrado a la presente tesis. Además de permitir realizarla en la división de genética.

Q.F.B. ADOLFO CARDENAS ORTEGA. Por su interes personal y por el apoyo institucional al desarrollo de la presente tesis. Además de su incalculable experiencia en la dirección de la tesis.

BIOL. NESTOR DELGADO PONCE. Por las facilidades otorgadas para el uso de su equipo de computo, para la redacción y revisión.

BIOL. JALIL FALLAD CHAVEZ. Por el interes y apoyo personal a mi tesis. Además por su ayuda en la redacción, revisión y critica de la misma.

Q.F.B. ESTHER GARCIA IBARRA. Por la cooperación en la obtención de muestras de sangre.

Q.F.B. BERTHA IBARRA CORTES. Por el interes y apoyo personal, tanto teórico como práctico, así como de su incalculable experiencia y por tiempo y paciencia que prestó desde el inicio de la tesis, hasta llevarla a buen término.

Q.F.B. GONZALO RAMOS GOMEZ. Por el interes y apoyo en la donación de las muestras de sangre.

MED. FERNANDO RIVAS SOLIS. Por el apoyo mostrado en la interpretación de los resultados obtenidos.

MED. JOSE SANCHEZ CORONA. Por el apoyo prestado durante el desarrollo del presente trabajo.

ING. ROGELIO TROYO SANROMAN. Por las facilidades prestadas en la estadística e interpretación de los resultados.

MED. MIGUEL ZARATE ZARATE. Dir. de la Clinica # 24 de I.M.S.S. en Ameca, Jal. Por las facilidades prestadas e interes personal hacia mi tesis y hacia los pacientes.

PERSONAL DE LABORATORIO DE BIOQUIMICA II DE LA DIVISION DE GENETICA DE LA U.I.B.O. DEL I.M.S.S. Por el apoyo prestado a la presente tesis.

A MIS PADRES Y HERMANOS. Por el apoyo incondicional para llevar a termino mi carrera de licenciatura.

A TODAS AQUELLAS PERSONAS QUE DE UNA U OTRA MANERA COLABORARON VOLUNTARIAMENTE.

INDICE

INTRODUCCION	1
ANTECEDENTES	2
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	8
OBJETIVOS	9
HIPOTESIS	10
MATERIAL Y METODOS	11
RESULTADOS	17
DISCUSION	24
CONCLUSIONES	25
LITERATURA CITADA	26

INTRODUCCION

El estudio de la variabilidad fenotípica de las especies ha sido de gran importancia para los estudiosos de la evolución, porque ésta, por medio del estudio de ella, ha permitido tener un parámetro de como las especies van evolucionando de generación en generación. Una forma fácil de realizar un estudio confiable de este tipo es por medio del análisis de la variabilidad de una proteína estructural; la hemoglobina (Hb) reúne estas características ya que presenta una homología interespecifica y a su vez muestra una gran variabilidad dentro de una misma especie debidas a mutaciones puntuales o génicas, entre otras.

En el presente trabajo se ha intentado detectar a una Hb particular, la Hb Tarrant, la que en 2 de 3 reportes en la literatura se encontró en pacientes originarios de Jalisco, uno de ellos particularmente de Ameca, Jal., por lo que se planteó realizar el presente trabajo en esta población con el fin de investigar su origen. Asimismo, se propone el uso de diferentes métodos electroforéticos para obtener una ventaja adicional que permita la detección de la Hb Tarrant y otras variantes de la Hb presentes en una población, con el fin de obtener un mejor parámetro sobre la variabilidad que presenta una especie en una región dada.

ANTECEDENTES

Entre los componentes del núcleo celular, los cromosomas son los más importantes, ya que por medio de ellos, la progenie hereda a través de los padres las características propias de la especie, con la consecuente variabilidad. Cada especie viviente posee un número característico de cromosomas y por lo tanto un número particular de genes que se heredan independientemente unos de otros (segregación independiente). Para cada característica o FENOTIPO existen dos o más genes, localizados en los cromosomas homólogos (paterno y materno) que al ser descifrados o conocidos representan el GENOTIPO. Cuando dos genes en un individuo llevan información para un mismo carácter reciben el nombre de alelos. Y si es portador de un alelo particular en ambos cromosomas se dice que es homocigoto y si lo es de alelos diferentes, heterocigoto. La variabilidad entre los individuos se da por cambios en el ADN los que a su vez pueden estar influenciados por el ambiente. Actualmente se distinguen dos mecanismos creadores de variabilidad en las especies: la mutación y la recombinación de genes durante el proceso de meiosis. Las mutaciones aparecen espontáneamente en la naturaleza con una frecuencia baja y se pueden distinguir en dos clases: las mutaciones génicas o puntuales y las mutaciones cromosómicas (1). Algunos autores consideran que una especie somete a la selección natural en cada generación a una parte muy pequeña de su población total, calculada en un 1% o 2% (1).

En 1937, Perutz (2) eligió a la Hb como la proteína que podría resolver las interrogantes acerca de la

estructura de las proteínas, y así después de más de 20 años de estudio, fue la primera proteína oligomérica con estructura terciaria y cuaternaria conocida gracias al análisis de cristalografía de rayos X realizado por Perutz y cols. en 1959 (2, 3, 4), sus trabajos culminaron en una serie de estudios detallados sobre la estructura de esta importante proteína. Cabe mencionar que también fue la primera proteína a la cual se le determinó la secuencia de aminoácidos. Los conceptos básicos de evolución molecular inician con el análisis de la secuencia y la estructura globinica en diferentes especies (3).

En los animales superiores, la Hemoglobina, la proteína transportadora (4), que se encuentra dentro de los eritrocitos (4, 5), tiene como función primordial el acarreo del oxígeno, por medio de los grupos HEMO llevándolo desde los pulmones a los tejidos y facilitando el regreso del dióxido de carbono de los tejidos a los pulmones (2). Parte del transporte del bióxido de carbono ocurre porque el amino terminal de las cuatro cadenas en la Hb esta directamente unido para formar compuestos de carbaminos (3). Existen dentro de cada eritrocito aproximadamente 280 millones de moléculas de Hb (6). La Hb está compuesta por una parte proteica y un grupo HEMO también conocido como grupo prostético, esta porción hemo es semejante para todas las formas de Hb, de ahí, que la variación genética se vea solamente restringida a la estructura globinica (6). La parte proteica está formada por un tetrámero de subunidades de cadenas globinicas conocidas como ALFA, BETA, GAMMA, DELTA, EPSILON y DSETA (7), cada subunidad contiene un grupo HEMO no protético unido a las globinas por un enlace covalente y uno no covalente (4, 5),

siendo este el pigmento que contiene el hierro, que combinado con el oxígeno, da la capacidad de transportación de oxígeno molecular a dicha molécula. Cada tipo de Hb se forma por la combinación de las subunidades mencionadas, así por ejemplo: la Hb de un humano adulto, está constituida por 2 subunidades ALFA idénticas, compuesta cada una de ellas por 141 aminoácidos, con un peso molecular de 15,126 Daltons y 2 subunidades BETA idénticas compuestas cada una de ellas por 146 aminoácidos con un peso molecular de 15,867 daltons. En comparación, a la Hb adulta la Hb Fetal Humana, posee 2 subunidades ALFA y 2 subunidades GAMMA (7). Cabe mencionar que en el humano se presenta una sucesión normal de Hb, que depende de los estadios de desarrollo.

La familia de genes de las cadenas ALFA y BETA de la Hb adulta se encuentran en cromosomas separados en el hombre. El cromosoma 16 de la especie humana, contiene la familia de genes para las cadenas ALFA (delta, pseudo-delta, pseudo-alfa 2, pseudo-alfa 1, alfa 2, alfa 1 y theta 1) y el cromosoma 11 contiene la familia de genes para las cadenas semejantes a BETA (epsilon, gamma G, gamma A, pseudo-beta 1, delta y beta). La expresión de dichos genes es de 5' a 3' a lo largo de cada cromosoma y muestran cambios en el desarrollo de embrión a feto y de feto a adulto. En ambas familias génicas existen 5 pseudogenes (los Psi y Theta) los cuales tienen una información semejante a los genes anteriores pero no se expresan y este orden no se encuentra en todos los vertebrados (3).

Hasta la fecha, se han descrito más de 580 variantes de Hb humanas adultas consideradas anormales, por presentar diferencias en la secuencia de sus aminoácidos, producidas la mayoría

de ellas por la sustitución de un aminoácido por otro (1, 4, 5, 7). De todas las variantes de Hb conocidas y reportadas, un alto porcentaje de ellas no causan modificación en su estructura o función y por lo tanto, no conducen a una patología clínica ó funcional, mientras que el resto según el tipo de alteración que se produjo, pueden ocasionar anemia hemolítica, cianosis, hipoxia, eritroblastosis, etc. (1, 7, 8). El primer paso en la genética de las hemoglobinopatías fue dado en 1949 por Neel (6), quién demostró heredabilidad de un padecimiento en la sangre conocida como enfermedad de células falciformes o anemia drepanocítica en estado homocigoto, esta condición también se presenta en estado heterocigoto. Poco después Paulin y cols. (6), demostraron que la anemia drepanocítica era debida a la presencia de una hemoglobina con movilidad electroforética diferente denominada Hb S y consideraron este padecimiento como prototipo de una enfermedad molecular. Ingram (6) descubrió que esta anormalidad en la Hb de células falciformes era debida al reemplazo de uno de los 287 aminoácidos de la mitad de la molécula de la Hb, en la posición 6 de la cadena BETA, el ácido glutámico es reemplazado por valina, esta fue la primera demostración de que una mutación en un gen estructural en cualquier organismo podría causar la sustitución de un aminoácido por otro en una molécula. El conocimiento y analisis de las alteraciones de las Hb humanas, es actualmente de gran importancia para los estudios sobre la evolución, los aspectos moleculares de la síntesis protéica y la relación estructura-función. Las principales alteraciones de las Hb humanas son debidas a mutaciones génicas conocidas como puntiformes o puntuales, que dan lugar a la sustitución de un aminoácido por otro,

a delección, ó adición de uno o más aminoácidos ó a fusión globínica (1).

Entre las Hb anormales más frecuentes se encuentran la Hb S (B6(A3) Glu→Val), la Hb E (B26(B8) Glu→Lis), la Hb C (B6(A3) Glu→Lis), la Hb D-Los Angeles (B121(GH4) Glu→Gln) y la Hb G-Filadelfia (A68 Ans→Lis) (7). Estas junto con las Hb Hb O-Arab (B121(GH4) Glu→Lis), H (B4), Lepore-Boston (D(1-87)(b115-146) y Köln (B98(FG5) Val→Met), con la frecuencia menor que las anteriores, componen junto con ellas, al grupo de Hb anormales con más frecuencia en el mundo (7). Estas variantes de Hb, afectan a un gran número de personas y son importantes por su relevancia en los mecanismos fisiopatológicos (1). La Hb S (hb S), es la Hb que se presenta en el mundo con más frecuencia y está caracterizada por su capacidad de polimerizar en el eritrocito y formar largas cadenas a baja presión del oxígeno y deformarlo a drepanocito o forma de Hoz (1, 8). Su importancia clínica se debe a que en estado homocigoto, produce anemia hemolítica sévera (8).

En el presente trabajo, se estudió la presencia de la Hb Tarrant, en una población del Estado de Jalisco, esta proteína ha sido encontrada en individuos de origen mexicano. La Hb Tarrant fue descrita por primera vez en 1977, por Moo-Penn y cols. (9) en un niño de 6 años de edad, en esta variante, el ácido aspártico está sustituido por asparagina en la posición 126 de la helice H(9) en la cadena alfa (9). Su nombre se debe a que el caso índice radicaba en la población de Tarrant, Texas, en Estados Unidos de América. Dicha Hb tiene la propiedad de presentar una alta afinidad por el oxígeno y

una baja cooperatividad, debido a que la conformación DEOXI o estado T, está desestabilizada porque 2 de sus puentes de hidrogeno de ALFA 1 / BETA 2 y ALFA 2 / BETA 1 no pueden ser formados (9). Cabe mencionar que los individuos que presentaron esta Hb mutante estudiados por Moo-Penn, provenian del Norte de México. Más tarde, en 1981, Ibarra y cols. (10) reportaron nuevamente individuos que presentaron esta Hb, en dos familias mexicanas procedentes del estado de Jalisco, que radicaban en Guadalajara, Jal. y originarias de la población de Ameca, Jalisco, de las cuales 11 miembros fueron portadores de la Hb Tarrant; 10 de ellos en estado heterocigoto, produciendo aproximadamente 25 % de la Hb anormal y uno de ellos de 9 años de edad, en estado homocigoto. En una de las dos familias, ambos padres (aparentemente no consanguíneos) mostraron ser portadores de la Hb Tarrant. En 1982, Schroeder y cols. (11) vuelven a encontrar a un individuo con Hb Tarrant en un niño de 5 años de edad residente en Los Angeles, CA. en E.U.A., pero originarios de Jalisco. De ahí, que exista la posibilidad que la hemoglobina Tarrant sea endémica de la población de Ameca, Jalisco. Ya que la mayoría de los casos reportados de individuos portadores de tal Hb eran originarios del estado de Jalisco y un alto porcentaje de los individuos reportados, fueron originarios de la población de Ameca, Jalisco.

PLANTAMIENTO DEL PROBLEMA

Durante los estudios encaminados a detectar Hb anormales en diversas regiones del estado de Jalisco, y en el Noroccidente de México (12, 13), la Hb tarrant sólo se ha detectado en individuos originarios del estado de jalisco, sin embargo hasta la fecha no se ha realizado ningún estudio, para intentar establecer si la procedencia de la Hb Tarrant, es la población de Ameca, Jal.

Por otro lado, se utilizaron tres sistemas electroforéticos, ya que los estudios antes realizados, han sido llevado a cabo solamente a pH alcalino. Los tres sistemas fueron utilizados con el fin de buscar otras Hb anormales en esa población, ya que algunas de las Hb anormales son distiguibles electroforéticamente sólo a pH alcalino o a pH ácido, pero no pH neutro, mientras que otras podemos observarlas en pH ácido y pH neutro, pero no en el sistema alcalino, todas las muestras se confirmarán en acetato de celulosa a pH alcalino, por ser un sistema más fino y más estudiado.

OBJETIVOS

1. Buscar la presencia de hemoglobina Tarrant y otras hemoglobinas anormales en una muestra de población seleccionada de Ameza, Jalisco.
2. Utilizar tres sistemas electroforéticos a 3 distintos pH 5.2, 7.0 y 8.6; para la detección de otras hemoglobinas anormales.
3. Analizar las ventajas de la utilización de tres sistemas electroforéticos contra el sistema convencional alcalino.

HIPOTESIS

La hemoglobina Tarrant (Hb Tarrant) es frecuente en la población de Ameca, Jalisco.

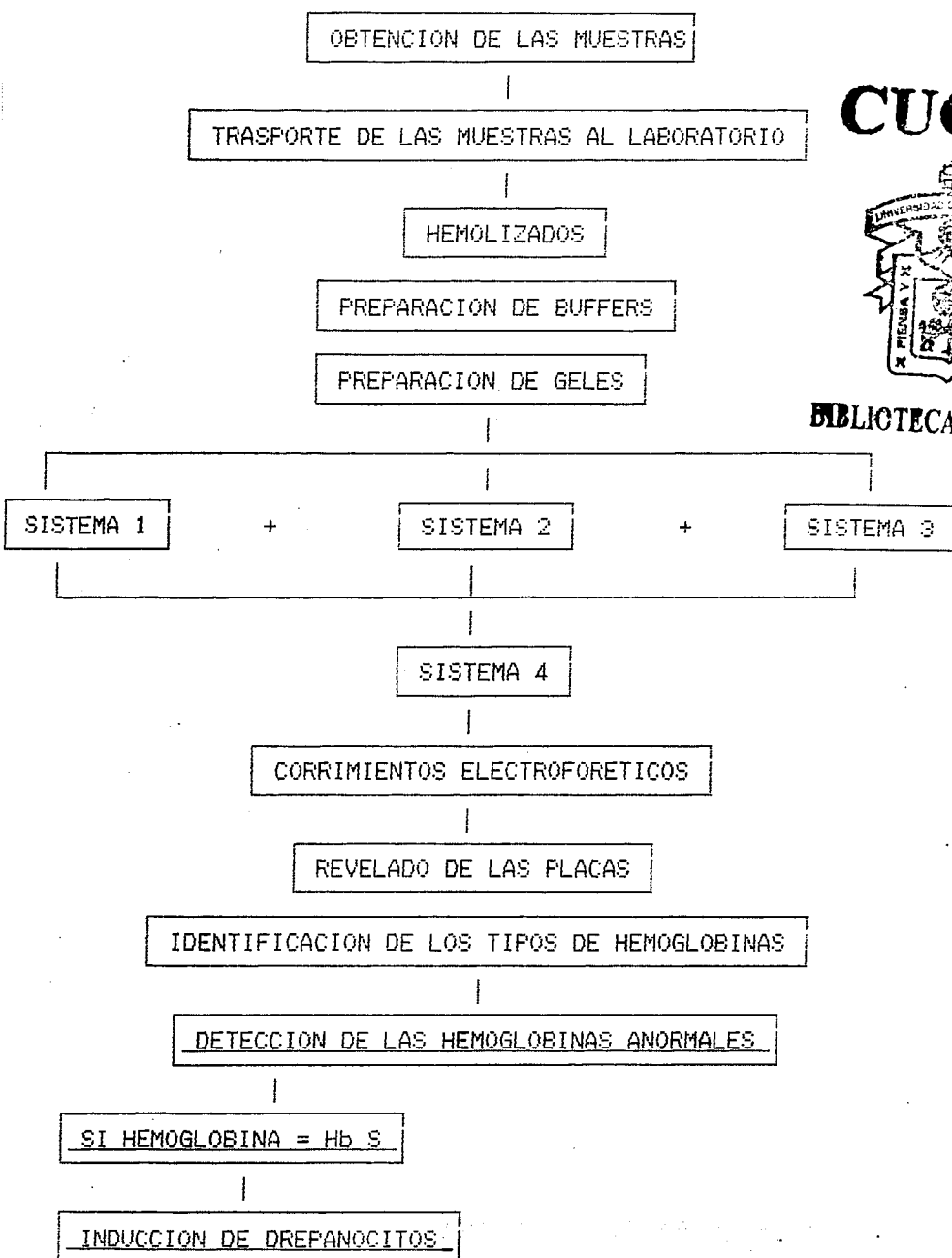
MATERIAL Y METODOS

Muestras. Para este estudio se analizaron 730 muestras de sangre de pacientes en quienes se realizó una biometria hemática ó, la determinación de glucosa en el Laboratorio de Análisis Clínicos de la Clínica 24 del I.M.S.S. en Ameca, Jalisco. El 96.58% de la población estudiada radicaba en la ciudad de Ameca, Jal. y el 3.42% restante, pertenece a individuos que radicaba en las zonas circunvecinas pertenecientes al mismo municipio y que no muestran aislamiento geográfico.

Reactivos. Los reactivos utilizados fueron: EDTA, agar noble especial, membranas de acetato de celulosa (GELMAN) (DIFCO), cianuro de potasio (MALLINCKRODT). Tetracloruro de carbono, fosfato de sodio Monobásico, ácido bórico, ácido acético, citrato de sodio y ácido cítrico. Ortotolidina, trizma base, colorante Ponceau (SIGMA). Acido fosfórico concentrado (TECNICA QUIMICA), metabisulfito de sodio (ALLIED), peróxido de hidrogeno (HARLECO), solución salina fisiológica y agua destilada.

Equipo de laboratorio. Se utilizó el siguiente equipo de laboratorio: Centrifuga (CLAY ADAMS), potenciómetro (BECKMAN), agitador magnético (SOLVAT), agitador Vortex (BECKMAN), microscópio óptico, (ZEISS) cámaras húmedas, balanza Analítica (CHYO JUPITER), cámaras de electroforesis (BECKMAN, CAMAG, GELMAN), y fuentes de energía (BECKMAN, CAMAG). Aplicadores de Hb (BECKMAN HELENA) y el correspondiente equipo de laboratorio menor como es critaleria y otros materiales.

DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA DETERMINACION Y DETECCION DE HEMOGLOBINAS ANORMALES



CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

OBTENCION DE LAS MUESTRAS DE SANGRE

Las muestras de sangre fueron alicódotas de las obtenidas de Octubre de 1988 a Marzo de 1989 en el laboratorio de la Clínica 24 del I.M.S.S. en Ameca, Jal., y contenían EDTA como anticoagulante. Fueron transportadas después de 1 a 7 días de su obtención y conservadas a 4 grados centígrados.

TRANSPORTE DE LAS MUESTRAS

Las muestras colectadas se transportaron en un refrigerador de unicel en frío, a la División de Genética, de la Unidad de Investigación Biomédica de Occidente, I.M.S.S. en Guadalajara, Jal., para ser procesadas en las siguientes 72 horas después de estar en refrigeración a 4 grados centígrados.

HEMOLIZADOS

Para la preparación del hemolizado de las muestras, se procedió a lavar la sangre total 3 veces con solución salina al 0.85% y se cetrifugó a 3000 rpm después de cada lavado. Por cada ml de paquete de eritrocitos se agregó 1 ml de agua destilada y 0.4 ml de tetracloruro de carbono, agitándose vigorosamente para centrifugarse a 3000 rpm por 5 minutos, el sobrenadante se recuperó sin tocar los estromas (14).

SISTEMA 1 (ACIDO):

Se preparó el buffer, agregando 14.7 g de citrato de sodio a 80 ml de agua destilada ajustándose el pH a 6.2 con ácido cítrico para diluir a 100 ml. Para la solución de trabajo la dilución es de 1:10. Para la preparación del gel, se utilizó agar noble especial al 1 % (para los 3 primeros sistemas) en la solución trabajo, colocándose 30 minutos a baño de temperatura constante (ebullición) y se vació este en placas de cristal de 10 X 20 cm. Se tomó una gota del hemolizado diluida en una gota de cianuro de potasio y se aplicó la mezcla a la placa de cristal que contiene el gel en los primeros dos centímetros del lado catódico de la placa y se aplicó el segundo grupo de muestras a 6 cm de distancia de las primeras. Las dimensiones de la placas de cristal, la dilución en cianuro de potasio y su aplicación fueron las mismas para los sistemas 1, 2 y 3. La electrofóresis se efectuó según el método de Robinson y cols. (15) a 100 V y 60 mA en la fuente de energía y 40 mA en la cámara de corrimiento, con una duración de 2 horas a una temperatura de 4 grados centígrados. La tinción se realizó con una solución 1:10 en agua destilada de ortotilidina en ácido acético al 2%, se agregaron de 2 a 4 gotas de peróxido de hidrogeno al 4% y se lavó la placa en agua corriente. Este procedimiento se repitió para los sistemas 1, 2 y 3.

SISTEMA 2 (NEUTRO):

Se preparó una solución buffer de fostato de sodio a pH a 7.0. Para preparar el gel se utilizó buffer diluido 1:7.5 en

agua destilada. Para los compartimientos de la cámara electroforética se empleó el buffer sin diluir de acuerdo con el método de Centa y Sciarruta (16) modificado (pH de 7.0 en vez de 6.2 y agar noble especial en lugar de almidón). La electrofóresis se realizó a 120 V y 30 mA durante 1 hora y a 4 grados centígrados.

SISTEMA 3 (ALCALINO):

Para este sistema se utilizó un buffers de TRIS-EDTA-BORATO a pH a 8.6. Para la preparación del gel se diluyó el buffer (solución madre) 1:30. Los amortiguadores de corrimiento fueron: Para el cátodo, solución madre diluida 1:7 y para el ánodo, solución madre diluida 1:3.5. La electrofóresis se efectuó a 250 V y 30 mA por 1 hora a 4 grados centígrados, según el método de Manrengo-Rowe (14, 17), modificado por Alperin y cols. (18).

SISTEMA 4 (ACETATO DE CELULOSA):

Se utilizó un buffer TEB a pH a 8.4. Se humedecieron por 15 minutos las membranas de acetato de celulosa en buffer de corrimiento. Se eliminó el exceso de humedad con papel absorbente y se aplicaron las muestras hemolizadas previamente (ver sistema 1) en posición catódica y se realizó el corrimiento electrofético en las cámaras CAMAG, a 100 V por 30 minutos a 4 grados centígrados. Se reveló con Ponceau durante 5 minutos y se lavó con ácido acético al 5% según el método de Schneider (14, 18, 19).

CRITERIOS PARA LA IDENTIFICACION DE LAS HEMOGLOBINAS

Los criterios para la identificación de Hb fueron hechos en base a la movilidad de las bandas y de acuerdo a su carga eléctrica, partiendo del punto de aplicación, utilizando para esto los criterios de Fairbanks (7), Ibarra (13), Dickerson (3), Thompson (8), y Bunn (8).

INDUCCION DE DREBANOCITOS

Se preparó una solución de metabisulfito de sodio al 2% en agua destilada y se mezclaron una gota de la solución y 1 gota de sangre total en un portaobjetos, se cubrió con un cubreobjetos y se selló con silicón. Se dejó reposar 30 minutos para observarse al microscopio óptico. Esta inducción se realizó por el método modificado de Daland y Castle (20) para corroborar la presencia de Hb S en los casos necesarios.

RESULTADOS

En 730 pacientes que fueron estudiados para la determinación de su tipo de Hb, no se encontró ningún caso de Hb Tarrant. Sin embargo, se identificaron 6 individuos heterocigotos para Hb S mediante los sistemas 1 y 3. La confirmación de la identidad de la Hb S se hizo por la prueba de inducción de drepanocitos, la cual resultó positiva en los 6 casos. 11 de 23 familiares estudiados resultaron también portadores de Hb S. Los árboles genealógicos se presentan en la Figura 1. Cabe hacer notar que en ninguna de estas familias se refirieron antecedentes de raza negra.

Los 6 casos detectados con Hb S representan una frecuencia de 0.0082% con respecto a la población estudiada.

La frecuencia esperada de individuos homocigotos dominantes (AA), heterocigotos (AS) y homocigotos recesivos (SS) en la población de Ameca (40,000 habitantes en el censo 1980) se obtuvo a partir de la siguiente fórmula:

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1.$$

Donde

p^2 = Homocigotos dominantes

$2pq$ = heterocigotos

q^2 = homocigotos recesivos

Asumiendo que la población esta en equilibrio de Hardy-Weinberg y que la frecuencia del alelo S es muy baja, puede considerarse que

$$2pq \approx 2q$$

Por lo tanto:

$$0.0082 = 2pq = 2q$$

Y

$$0.0041 = q$$

En consecuencia:

$$p = 1 - 0.0041 = 0.9959$$

Para fines prácticos

$$p = 0.996 \text{ y } q = 0.004$$

De acuerdo con lo anterior, el número esperado de personas homocigotas SS para la población en cuestión es de

$$\begin{aligned} 40,000 \times q^2 &= 40,000 \times (0.004)^2 \\ &= 40,000 \times 0.000016 \\ &= 0.64 \end{aligned}$$

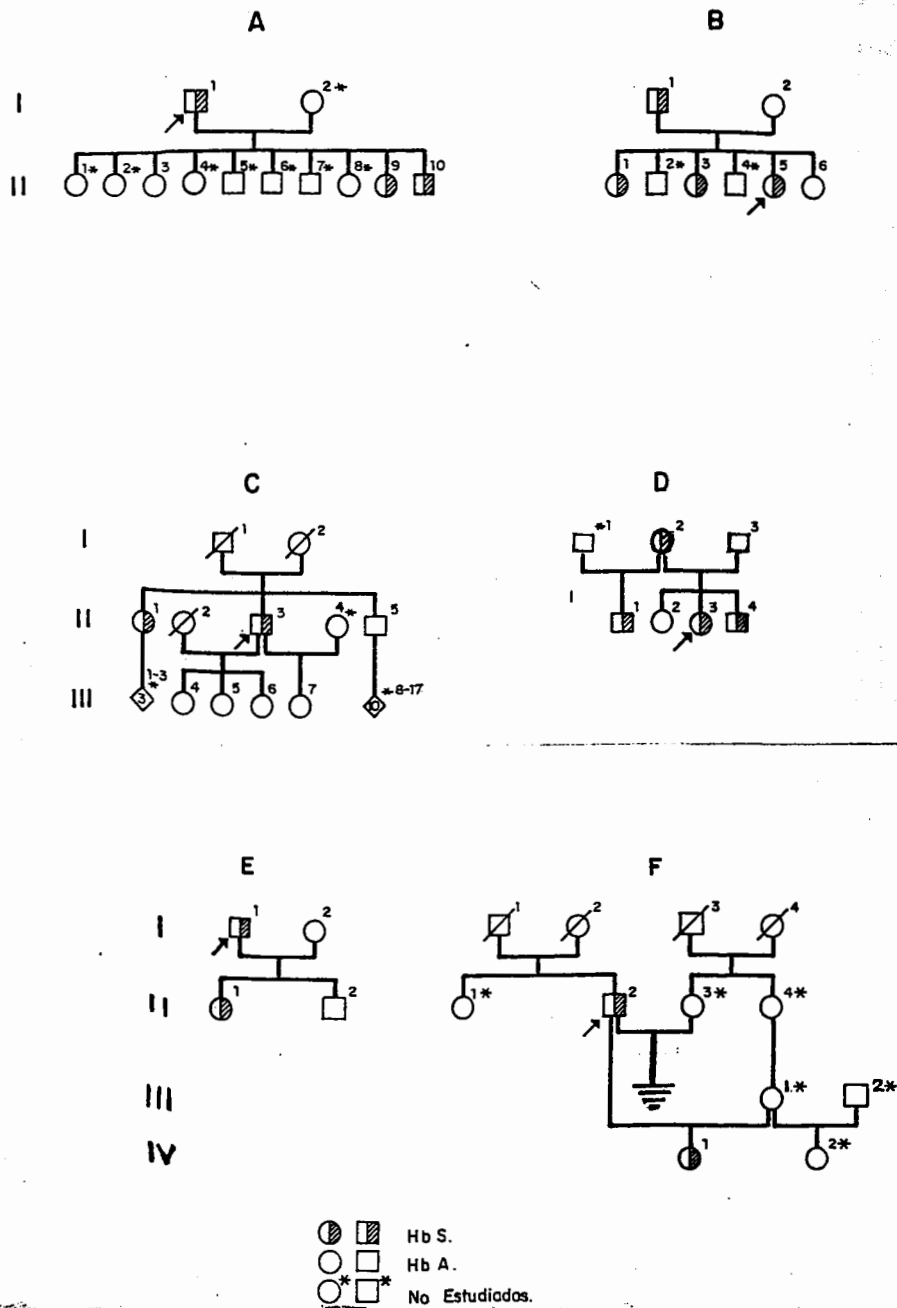
Por lo que el no haber encontrado ningún sujeto SS en esta muestra de 730 personas estudiadas es perfectamente entendible.

Ya que la Hb Tarrant presenta entre sus características alta afinidad por el oxígeno y una baja cooperatividad, sus portadores muestran eritrocitosis y en

consecuencia un hematocrito considerablemente alto. En base a estos datos se recurrió a realizar un estudio retrospectivo en los pacientes citados a estudios de laboratorio en la mencionada Clínica que presentaran un valor alto de hematocrito (mayor de 2 s por arriba de la media, en las mujeres igual o mayor de 46 y en los hombre igual o mayor de 54). En esta segunda evaluación la búsqueda de Hb Tarrant fue también negativa.

HAB
KSA
No. 100000000

FIGURA 1
Arboles genealógicos de los portadores de Hb S.



En relación con los diferentes sistemas de corrimientos electroforéticos, los hallazgos positivos se observaron en los sistemas 1, 3 y 4. (FIGURA 2, 4 y 5). Para la inducción de drepanocitos (FIGURA 6).

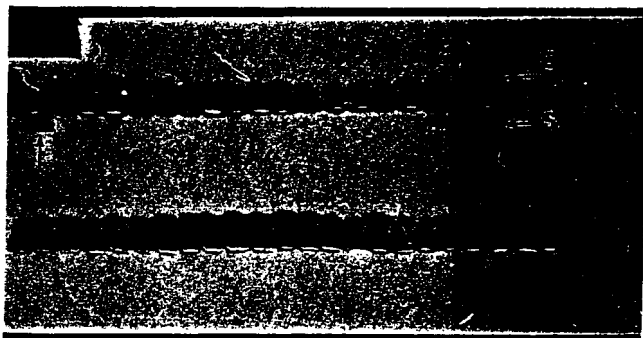


FIGURA 2
Fenotipo de la Hb S en el sistema 1.

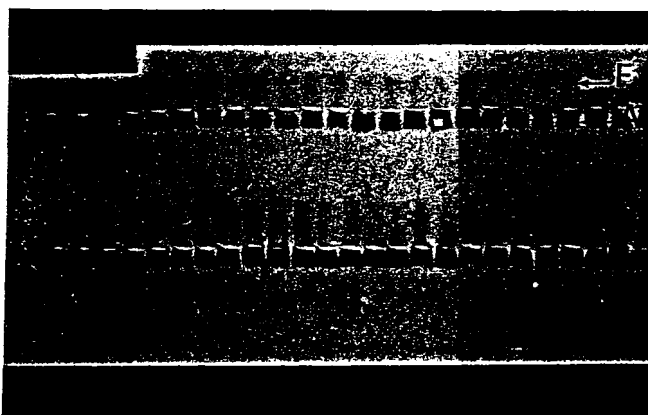


FIGURA 3
Corrimiento en el sistema 2 en el cual no se detectó la presencia de la Hb S.

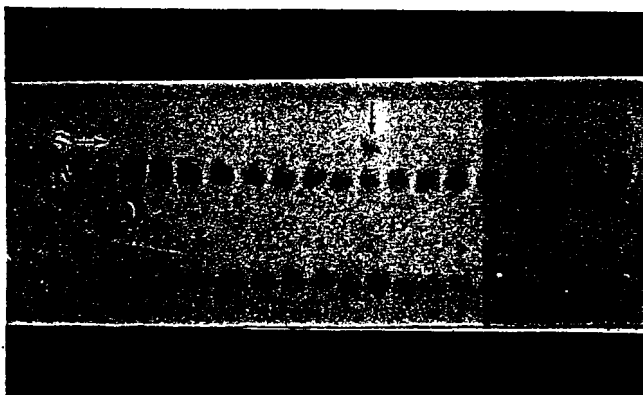


FIGURA 4
Fenotipo de la Hb S en el sistema 3.

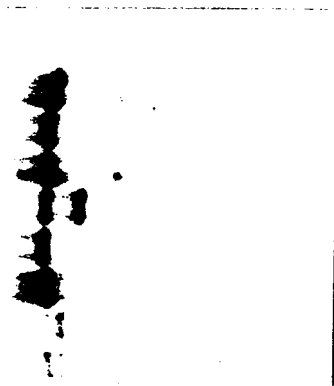


FIGURA 5
Fenotipo de Hb S en el sistema 4.

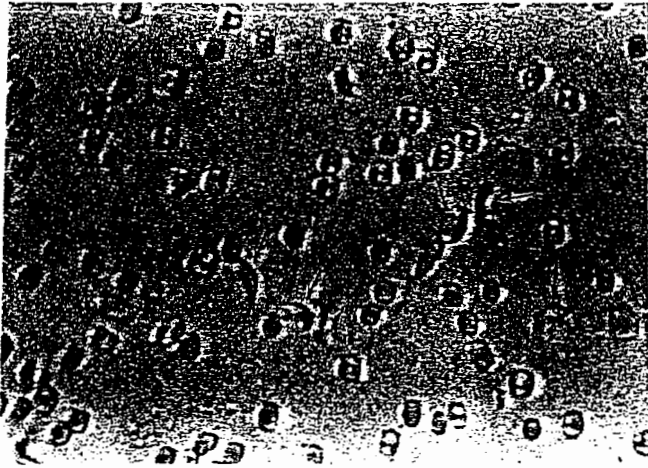


FIGURA 6
Prueba de inducción de drepanocitos.

DISCUSION

El uso de los sistemas electroforéticos 1, 3 y 4 fue idóneo para este estudio porque permitió detectar a las Hb anormales. Aunque en el sistema 2 no se encontraron anomalías, su uso es considerado importante por la posibilidad de encontrar eventualmente variantes nuevas de Hb.

En el presente trabajo en las 730 muestras analizadas no se detectó la Hb Tarrant, lo que significa que la hipótesis planteada no se confirmó, este hecho puede ser debido a por lo menos dos causas: a) que la frecuencia sea tan baja (menos de 0.13% lo que significaría haber encontrado un portador en las 730) que el número estudiado fuese insuficiente, b) que el origen de esta Hb no sea realmente Ameca, Jal. como se hipotetizó en base a los datos proporcionados por los portadores detectados (13). En tal caso, no podría descartarse que los portadores originales de generaciones lejanas pertenecieran a cualquier otra población y que las familias de los casos originales desconociesen esta información.

La frecuencia de portadores de Hb S estimada en este trabajo fue de 0.0082. Este valor es muy similar a los obtenidos en otros trabajos realizados en poblaciones de Jalisco: de 0.0035 a 0.0045 (13), lo cual permite concluir que las muestras investigadas en este trabajo no tienen un sesgo significativo y además corroboran el valor de la frecuencia de la Hb S.

CONCLUSIONES

No se encontró ningún caso índice con hemoglobina tarrant.

Se detectaron 6 portadores de Hb S, lo que permitió el estudio de 23 familiares 11 de los cuales resultaron ser portadores de dicha Hb.

La frecuencia del alelo S es de 0.004 en la región de Ameca, Jal. y la de portadores (AS) de 0.0082% la cual no es significativamente diferente a la encontrada en otras poblaciones de Jalisco que va de 0.0035 a 0.0045.

LITERATURA CITADA

- 1.- Monserrat, C. S. L., Evolucion, Ed. Alhambra, Madrid, 1987.
- 2.- Perutz M.F., La estructura de la hemoglobina y el transporte respiratorio., Investigacion y ciencia, 40-55, febrero 1979.
- 3.- Dickerson R.E., I. Geis, Hemoglobin: Structure, Function, Evolution, and Pathology. The Benjamin Cummings Publishing Company, Inc. 1983.
- 4.- Lehninger, A. L., Bioquimica, Omega, Segunda Edicion, Madrid, 1984.
- 5.- Martin, D. W., P.A., Mayes, V. W., Rodwell, et al., Bioquimica de Harper, Ed. El Manual Moderno, Mexico, 1984.
- 6.- Thompson, M.D.J.S., M.W. Thompson, Ph.D.: Genetics in medicine., W.B. Saunders Company, 1986. fourth edition.
- 7.- Fairbanks, V. F., Hemoglobinopathies and thalassemias Laboratory methods and cases studies, Brian C. Decker Ed., 1980.
- 8.- Bunn, H. F., B. G. Forget, Hemoglobin: Molecular, Genetic and Clinical Aspects, W. B. Saunders Co., USA, 1986.
- 9.- Moo-Penn, W. F., D. L. Jue, M. H. Johnson, S. M. Wilson, B. Therrell Jr., R. M. Schmidt, Hemoglobin Tarrant: alfa 126 (H9) Asp --> Asn. A new hemoglobin variant in the alfa 1 beta 1 contact region showing high oxigen affinity and reduced cooperativity, Biochimica et biophysica Acta, 490: 443- 451, 1977.
- 10.- Ibarra, B., G. Vaca, J. M. Cantu, Heterozygosity and homozygosity for the high oxigen affinity hemoglobin Tarrant or alfa 126 (H9) ASP --> ASN in two mexican families, HEMOGLOBIN, 5(4): 337- 348, 1981.
- 11.- Schroeder, W. A., J. B. Shelton, J. R. Shelton, D. Powars, S. Friedman, J. Baker, J. Z. Finklestein, B. Miller, C. S. Johnson, J. R. Sharpsteen, L. Sieger, and E. Kawaoka, Identification of eleven human hemoglobin variants by high-performance liquid chromatography: Additional data on functional properties and clinical expression, Biochemical Genetics, 20 (1 y 2), 1982.
- 12.- Ibarra, B., P. Zuffiga, M. L. Ramirez, L. C. Martinez-Orozco, J. M. Cantu, Deteccion de alteraciones de la hemoglobina en una muestra de poblacion del Noroccidente de Mexico. Informe preliminar, Arch. Invest. Med. (Mex), 11: 491- 496, 1980.

- 13.- Ibarra, B., G. Vaca, E. Franco-Gamboa, D. Garcia-Cruz, E. De la Mora, L. P. Castro-Felix, L. C. Martínez-Orozco, J. M. Cantu, J. B. Wilson, H. Lam, M. E. Gravelly and T. H. J. Huisman, Anormal hemoglobins in Northwestern Mexico, *Acta Anthropogenetica*, 6 (4): 217- 223, 1982.
- 14.- Saenz, R. G. F., J. M. Ferreira, Laboratorio de Hemoglobinopatias. Manual Latino Americano, San Jose Costa Rica, 1980.
- 15.- Robinson, A. R., et al., A new technique for differentiation of hemoglobin, *J. Lab. Clin. Med.*, 50: 745, 1957.
- 16.- Centa, A. et Sciarrita, V.:Electroforesi sur gel de agar. Applicazonii allo studio delle emoglobine normali e patologiche nel lattante. *Pathologica*, 59: 25, 1967.
- 17.- Marengo-Rowe, A. J., Rapid electrophoresis and quantitation of hemoglobins on cellulose acetate, *J. Clin. Path.*, 18: 790, 1965.
- 18.- Alperin, J. D., Dow, P. A. & Petteway, M. B., Hemoglobin A2 levels in health and various hematologic disorders, *Am. J. Clin. Path.*, 67 (3): 219-226, 1977.
- 19.- Scheneider, 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.
- 20.- Daland G.A. and Castle, W.B.:A Simple method for demostration sickling of the red blood cell; The use of reducing agents. *J. lab. clin.med.* 33: 1882, 1948.



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
FACULTAD DE CIENCIAS

Expediente

Número 420/89

SRITA. EVA JUDITH HUESO GUERRERO
P R E S E N T E . -

Manifiesto a usted que con esta fecha ha sido aprobado el tema de Tesis "DETECCION DE HEMOGLOBINA TARRANT EN UNA MUESTRA SELEC_CIONADA DE LA POBLACION DE AMECA, JAL." para obtener la Licenciatura-en Biología.

Al mismo tiempo informo a usted que ha sido aceptado como Director de dicha Tesis el Q.F.B. Adolfo Cárdenas Ortega.



FACULTAD DE CIENCIAS

ATENTAMENTE
"PIENSA Y TRABAJA"
Guadalajara, Jal. Mayo 4 de 1989
EL DIRECTOR

ING. ADOLFO ESPINOSA DE LOS MONTEROS CARDENAS.

c.c.p. El Q.F.B. Adolfo Cárdenas Ortega, Director de Tesis.-Pte.
c.c.p. El expediente de la alumna.

'mjsd

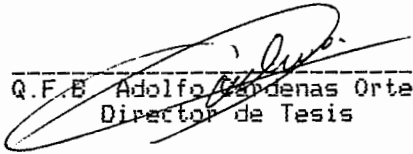
C. Ing. Adolfo Espinoza de los Monteros Cárdenas
Dir. Facultad de Ciencias
Universidad de Guadalajara
P R E S E N T E:

Por medio de la presente comunico a Usted que la C. Eva Judith Hueso Guerrero, pasante de la Licenciatura en Biología con número de registro 081328218, Ha concluido satisfactoriamente el trabajo titulado: DETECCION DE HEMOGLOBINA TARRANT EN UNA MUESTRA SELECCIONADA DE LA POBLACION DE AMECA, JALISCO.

Asimismo le informo que he revisado el manuscrito de la tesis y considerando que cumple con los requisitos establecidos por la Facultad a su digno cargo y no encontrando ningún inconveniente para que se imprima, por lo que pido a Usted permita se realicen los tramites necesarios para su examen correspondiente.

Sin más por el momento, aprovecho la ocasión para enviarle mis más cordiales saludos, quedando de Usted como su S. S.

A T E N T A M E N T E


Q.F.B. Adolfo Cárdenas Ortega
Director de Tesis

Guadalajara, Jal., 12 de Junio de 1989.