

Frecuencia de la hemoglobina S en cinco poblaciones mexicanas y su importancia en la salud pública

Rosenda I Peñaloza-Espinosa, PhD,⁽¹⁾ Leonor Buentello-Malo, MD,⁽²⁾ M Arcelia Hernández-Maya, QC,⁽³⁾ Beatriz Nieva-García, QBP,⁽¹⁾ Rubén Lisker-Yurkowitzki, MD,⁽⁴⁾ Fabio Salamanca-Gómez, MD.⁽¹⁾

Peñaloza-Espinosa RI, Buentello-Malo L, Hernández-Maya MA, Nieva-García B, Lisker-Yurkowitzki R, Salamanca-Gómez F. Frecuencia de la hemoglobina S en cinco poblaciones mexicanas y su importancia en la salud pública. *Salud Publica Mex* 2008;50:325-329.

Resumen

Objetivo. Informar la frecuencia de heterocigotos para la hemoglobina S (HbS) en cinco poblaciones mexicanas y el haplotipo en cinco muestras con HbS y subrayar su relevancia en la salud pública. **Material y métodos.** Se tomó una muestra de sangre periférica en 162 individuos no relacionados provenientes de tres poblaciones nahuas (Atocpan y Tlacotenco, DF, e Ixhuatlancillo, Veracruz), y en 131 mestizos (Coyolillo y Poza Rica, Veracruz), previo consentimiento informado. Se determinó el tipo de hemoglobina por electroforesis y se extrajo el DNA de leucocitos de cinco muestras en las que se determinó el haplotipo por PCR y corte con restrictasas. **Resultados.** Entre los nahuas se reconoció un heterocigoto HbAS (0.6%) y 18 en mestizos (13.7%). Se identificaron cuatro haplotipos Bantu y uno Benin. **Conclusiones.** Estos hallazgos son importantes en términos de la salud pública en poblaciones con alta frecuencia de HbS, para dar información y consejo genético a los portadores y la atención médica oportuna y adecuada a los pacientes.

Palabras clave: anemia de células falciformes; anemia falciforme; enfermedad de la hemoglobina S; México

Peñaloza-Espinosa RI, Buentello-Malo L, Hernández-Maya MA, Nieva-García B, Lisker-Yurkowitzki R, Salamanca-Gómez F. Hemoglobin S frequency in five Mexican populations and its importance in public health. *Salud Publica Mex* 2008;50:325-329.

Abstract

Objective. To provide information regarding the heterozygote frequency for hemoglobin S (HbS) in five Mexican populations, the Haplotype in five S chromosomes, and underscore its importance for public health. **Material and Methods.** A total of 162 samples from three Nahua populations (Atocpan and Tlacotenco, DF, and Ixhuatlancillo, Veracruz) and 131 from mestizo populations (Coyolillo and Poza Rica, Veracruz) were studied after obtaining informed consent. The hemoglobin type was determined by electrophoresis, and DNA in leucocytes was obtained from five HbS samples. The haplotype was determined by PCR and cut with restrictases, according to literature. **Results.** We found one heterozygote for hemoglobin S (0.6%) among Nahua and 18 among Mestizo groups (13.7%). Four haplotypes were Bantu and one was Benin. **Conclusions.** These findings are important to public health for populations with a high frequency of HbS, to inform and provide genetic counseling for carriers and medical attention to patients.

Key words: sickle cell anemia; falciform anemia; hemoglobin S disease; Mexico

- (1) UIM Genética Humana, Centro Médico Nacional SXXI, Instituto Mexicano del Seguro Social. México DF, México.
- (2) Instituto de Investigaciones Antropológicas, Universidad Nacional Autónoma de México. México DF, México.
- (3) Hospital General de Zona núm. 24. Poza Rica, Veracruz, México.
- (4) Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Dr. Salvador Zubirán. México DF, México.

Fecha de recibido: 30 de mayo de 2007 • **Fecha de aceptado:** 21 de enero de 2008
Solicitud de sobreiros: Dra. Rosenda Peñaloza. UIM Genética Humana, CMN SXXI, IMSS. Coahuila 5, Col Roma, Apdo Postal E-014. 06703, México, DF, México.
Correo electrónico: rosenda@servidor.unam.mx, rosendaie@hotmail.com

La hemoglobina (Hb) es una molécula compleja presente en los eritrocitos; su función es transportar el oxígeno a todos los tejidos del organismo. Se integra con cuatro cadenas peptídicas, cada una unida a una molécula de protoporfirina ferrosa (grupo hem), sitio donde se fija y desplaza el oxígeno. Se han descrito más de 400 variantes de hemoglobinas, que difieren entre sí en uno o más nucleótidos, lo que puede traducirse en cambio de aminoácidos que repercute en la función de la proteína. Es posible que estas variantes induzcan alteraciones funcionales diversas, incluida la producción de anemia hemolítica crónica; la hemoglobina S (HbS) es la más frecuente en el plano mundial y se halla hasta en 20% de las personas en algunas poblaciones africanas.^{1,2} En México se ha notificado una frecuencia variable en individuos mestizos, desde menos de 1% en el centro del país hasta más de 14% en las costas, algo atribuible al factor de la mezcla con sujetos de origen africano.³⁻⁶

La HbS resulta de una mutación en el sexto codón del gen de la globina beta, ubicado en el brazo corto del cromosoma 11. Produce un cambio de ácido glutámico por valina y los individuos que heredan la alteración de ambos padres (homocigotos para el gen beta-S) sufren anemia de células falciformes (ACF) o drepanocitosis.⁷ Los pacientes desarrollan anemia hemolítica crónica y crisis dolorosas crónicas debido a infartos consecutivos a la oclusión vascular en numerosos órganos. Esto ocurre porque la HbS tiende a polimerizarse cuando hay baja tensión de oxígeno, lo que provoca rigidez de los eritrocitos (célula en hoz, falciformes o en medialuna) y tiende a aumentar la viscosidad sanguínea, con oclusiones vasculares recurrentes y hemólisis crónica. El cuadro clínico es grave y los sujetos fallecen en los primeros años de vida si no se tratan de manera oportuna.⁸⁻¹¹

La ACF es una enfermedad que se hereda en forma autosómica recesiva y los heterocigotos son relativamente fáciles de identificar por métodos sencillos de laboratorio, si bien se trata de personas sanas desde el punto de vista clínico. Los matrimonios de éstos tienen 25% de riesgo en cada embarazo de tener hijos afectados con la enfermedad. En Cuba se realiza el tamiz de esta enfermedad en todos los neonatos con objeto de identificarlos y suministrar con posterioridad asesoría a las parejas que tienen el riesgo de concebir hijos afectados.¹² En México, el problema real se encuentra en poblaciones costeras en virtud de la elevada proporción de genes africanos^{3-6,13-16} y puede señalarse que en lugares donde la frecuencia de portadores es del orden de 10%, uno de cada 400 recién nacidos tendrá la enfermedad.

La importancia de conocer los haplotipos radica en que los de tipo Bantu (CAR, República Central Africana) y Benin acusan una gravedad mayor que los de tipo

Senegal o Arabia e India, en los cuales los pacientes pueden presentar síntomas diversos desde el segundo mes de edad, razón por la que requieren mayor y mejor atención médica continua.¹⁷

El presente trabajo se llevó a cabo con el objeto de investigar la frecuencia de HbS en cinco grupos no estudiados antes, llamar la atención hacia el problema y mantener programas de detección temprana y tratamiento oportuno, adecuado y constante.

Material y métodos

Se tomó una muestra de sangre venosa con EDTA como anticoagulante en 162 individuos de origen nahua: 74 de San Pedro Atocpan y 42 de Santa Ana Tlacotenco, ambas en la Delegación de Milpa Alta, DF, y 46 de Ixhuatlancillo, Veracruz, además de 131 mestizos: 34 de Coyolillo y 97 de Poza Rica. Las tres últimas poblaciones se localizan en el norte del estado de Veracruz. Todos los sujetos eran adultos, sin relación de parentesco con sus padres y abuelos de la región y dieron su consentimiento informado para el estudio. Las muestras se tomaron en el lugar de origen, entre enero de 2002 y diciembre de 2004 y se trasladaron el mismo día de la toma o al día siguiente al laboratorio de la Unidad de Investigación en Genética, donde se analizaron. El comité de ética del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional SXXI (CMN SXXI) aprobó el proyecto de trabajo toda vez que cumplía los reglamentos éticos señalados en la Declaración de Helsinki de 1975, revisada en 2000, y no violaba los artículos 96-101 de la Ley General de Salud.

Detección de hemoglobina S

Para la detección de HbS se tomó una alícuota de 0.1 ml de cada muestra y se procesó de acuerdo con las indicaciones de los laboratorios SEBIA (Francia) para el equipo HYDRASYS LC. Una vez terminada la electroforesis, se tiñó y se secó el gel en el mismo equipo de acuerdo con las indicaciones del productor.

Haplotipos de la familia de genes betaglobínicos

Se aisló DNA de sangre periférica por métodos convencionales y se amplificaron las regiones polimórficas del gen de la globina beta con iniciadores propuestos por Sutton y colaboradores¹⁸ en las siguientes condiciones: *buffer* 1X, MgCl₂ 1.5 mM, dNTP 200 µM iniciadores (sentido y antisentido), 10 pM de cada uno, Taq pol 1U, DNA 200 ng y agua para un volumen total de 25 µl. Se

sometieron a un termociclador (GeneAmp PCR-System de PE Applied BioSystem, USA) en las siguientes condiciones: un ciclo de 94°C por 5 min, 32 ciclos de 94° por 30 seg, 47-56° por 30 seg y 70° por 45 seg y un ciclo final de 70° por 7 min (cuadro I). Los haplotipos se formaron de acuerdo con la presencia (+) o ausencia (-) de corte con las enzimas de restricción, según se observa en la figura 1.

Una alícuota del amplificado se sometió a corte con enzima de restricción y se incubó con base en las instrucciones de la casa comercial que la distribuye. Se tomaron 2 µl del amplificado al que se agregó 1 µl del *buffer* 10X y 3 U de enzima en un volumen total de 10 µl. Se incubaron a 37°C por 2 h y se corrió la electroforesis de las muestras en gel de agarosa al 1.5% teñido con bromuro de etidio, en *buffer* TAE1X por 30 min a 100 V con un marcador de peso molecular de referencia y se observó bajo luz ultravioleta.

Resultados

Las poblaciones nahuas del DF no mostraron portadores anormales de hemoglobinopatías; en cambio, se hallaron uno, cinco y 13 portadores HbAS en Ixhuatlancillo, Coyolillo y Poza Rica, Veracruz, respectivamente

Cuadro I

CARACTERÍSTICAS DE LAS REGIONES AMPLIFICADAS

Primers ¹⁸	Sutton	Temperatura	Pb	Enzima	Fragmentos
1. (0-1)	5'ε	52°C	655	Xmn I	205/450
2. (2-3)	Gγ	54°C	782	Hind III	436/346
3. (3-4)	Aγ	55.9°C	769	Hind III	406/360
4. (5-6)	5'ψβ	49°C	701	HinfII	340/361
5. (7-8)	3'ψβ	47°C	614	HinfII	295/297

	ε	Gγ	Aγ	ψβ	δ	β	
5'	□	□	□	□	□	□	3'
Haplotipos	Δ	Δ	Δ	Δ	Δ		Sitios de Restricción
Benin	-	-	-	-	+		
Bantu (CAR)	-	+	-	-	-		
Senegal	-	+	-	+	+		
Arabia	+	+	-	+	+		

FIGURA 1. REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE LA FAMILIA DE GENES BETAGLOBÍNICOS CON LOS HAPLOTIPOS QUE FORMAN DE ACUERDO CON LOS RESULTADOS DE CORTE DE LAS ENZIMAS DE RESTRICCIÓN

Cuadro II
FRECUENCIA DE PORTADORES DE HbS
EN LAS POBLACIONES ESTUDIADAS

Población	N total	HbAS %	Frecuencia génica- A S
Atocpan, DF	74	0	1.000 0
Tlacotenco, DF	42	0	1.000 0
Ixhuatlancillo, Ver.	46	2.2	0.989 0.011
Coyolillo, Veracruz	34	14.7	0.926 0.074
Poza Rica, Veracruz	97	13.4	0.933 0.067

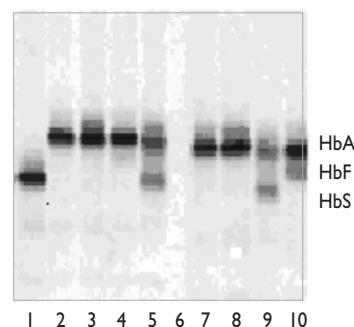


FIGURA 2. ELECTROFORESIS DE HEMOGLOBINAS. CARRIL 1, CONTROL SS; 2-4, 7, 8, NORMALES (AA); 5 Y 9, HETEROCIGOTO AS; 10 CONTROL, AF

(Cuadro II). La figura 2 muestra un ejemplo de corrimiento electroforético de las hemoglobinas A, F y S.

Las frecuencias son similares a las ya descritas por diversos autores, entre ellos Lisker,³ Ruiz-Reyes,^{4,5} Ibarra y colaboradores,¹³ Lisker y colaboradores,¹⁴ Peñaloza y colaboradores,^{5,15} y Magaña y colaboradores,¹⁶ aunque la regla es la falta de reconocimiento de esta alteración en grupos indígenas, a menos que se trate de zonas con presencia de población africana, como sucede en el estado de Veracruz.

Respecto de los resultados de la amplificación de las regiones de genes betaglobínicos, los haplotipos se formaron de acuerdo con la presencia o ausencia de sitios de corte tal y como se muestra en la figura 1. Los haplotipos son semejantes a los informados por dos grupos.^{15,16}

Discusión

Los datos obtenidos en este trabajo en las poblaciones nahuas son similares a los informados en otros protocolos,^{3-6,14} en los cuales se observa que de 22 poblaciones indígenas estudiadas, sólo en dos (coras y chontales) se identificaron portadores de HbS en 1 y 2%, respectivamente. Lo mismo sucede en los indígenas totonacos,¹⁹ pobladores de la región norte de Veracruz y Puebla, en quienes también se ha informado la misma proporción de heterocigotos AS, lo que sugiere que son resultado de mestizaje con africanos.

En relación con los mestizos de la costa de Veracruz, la frecuencia de hemoglobina S, de 14%, es un poco mayor de lo comunicado en ambas costas de México,^{3-6,13-16} lo que se explica por el mestizaje indígena-caucásico-africano en grado variable con africanos que llegaron a México en la época de la Colonia¹⁴ (cuadro III).

Se ha comprobado que si bien la mutación que produce la HbS es sólo una, su origen se ha ubicado en seis lugares diferentes: Bantú (o CAR, República Central Africana), Benin, Senegal, Camerún, Arabia e India, donde las cuatro primeras corresponden a regiones africanas.²¹ En México se ha informado la presencia de los tipos Benin y Bantú, que se expresan con mayor penetración que los restantes, lo que se correlaciona con diversas variables,²² entre las que figura un nivel muy bajo de hemoglobina fetal (HbF) (menor de 1%, como sucede en sujetos normales), en comparación con cifras de 5 a 20% en quienes tienen el tipo Senegal, Arabia o

India.^{22,23} Estos últimos poseen niveles elevados de HbF, lo que les permite mantener estable al eritrocito y evitar su deformación y hemólisis, lo cual supone una mejor calidad de vida.²⁴

Esto puede conseguirse con nuevos tratamientos; por ejemplo, se ha empleado la hidroxiurea para reducir la frecuencia de crisis de dolor y síndrome torácico agudo.²⁵

Llama la atención la existencia de poblaciones del interior de la República con portadores de HbS, como se indica en el cuadro III; además, en México existe un subregistro de portadores y pacientes con hemoglobinopatías y las investigaciones informadas con anterioridad señalan la evidente necesidad de aplicar métodos de detección de enfermedades hereditarias en general, y de hemoglobinopatías en particular, en poblaciones costeras para proporcionar información, consejo genético y, cuando es posible, diagnóstico prenatal a las parejas de heterocigotos para que tomen sus decisiones reproductivas de manera informada y libre, tal y como se realiza en otros países.^{26,27}

De igual modo, es importante analizar la presencia de hemoglobinopatías en los recién nacidos de estas regiones para instituir el tratamiento oportuno y adecuado y prevenir complicaciones que pongan en riesgo la vida de los pacientes. Estas recomendaciones se ajustan a los lineamientos de la Organización Mundial de la Salud²⁸ acerca de la anemia drepanocítica en el punto 1, que "...insta a elaborar, aplicar y reforzar de manera sistemática, equitativa y eficaz, programas nacionales

Cuadro III
CÁLCULO DE LA MEZCLA TRIHÍBRIDA DE ESTUDIOS PREVIOS MEXICANOS, ORDENADOS POR CANTIDAD DE ANCESTROS INDÍGENAS

Ciudad	Estado	n	Frecuencia génica		
			Negros	Indígenas	Blancos
Tlaxcala	Tlaxcala	138	0.079	0.762	0.159
Saltillo (La Minita)	Coahuila	123	0.152	0.610	0.238
Puebla	Puebla	393	0.107	0.563	0.330
México	DF	510	0.029	0.562	0.409
Saltillo (Chamizal)	Coahuila	104	0.042	0.556	0.402
Paraíso	Campeche	161	0.217	0.474	0.309
El Carmen	Campeche	109	0.284	0.432	0.284
Veracruz	Veracruz	148	0.256	0.394	0.350
Saladero	Veracruz	119	0.302	0.386	0.312
Tamiahua	Veracruz	109	0.405	0.307	0.288
México*	DF	474	0.014	0.276	0.708

Tomada de Lisker et al¹⁴ y ²⁰Peñaloza et al²⁰ (Gac Med Mex 1985;121:189-93)

integrados y amplios de prevención y gestión de la anemia drepanocítica que incluyan elementos de vigilancia, difusión de información, sensibilización, asesoramiento y detección de la enfermedad... a fin de que los pacientes reciban tratamiento inmediato y los padres tengan la información necesaria para mantener la salud...".

Agradecimientos

Los autores agradecen a Jorge N. García Azuara su participación en la electroforesis de las muestras. El presente trabajo fue apoyado de forma parcial por el Fondo para el Fomento a la Investigación (FOFOI) 2002-128 a FSG y 2004-151 a RIPE, del Instituto Mexicano del Seguro Social, (IMSS).

Referencias

1. Weatherall DJ, Clegg JB, Higgs DR, Wood WG. The hemoglobinopathies. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, Childs B, Kinzler KW, et al., ed. The metabolic and molecular bases of inherited disease. New York: McGraw-Hill, 2001: 4571-4664.
2. Lorey FW, Arnopp J, Cunningham GC. Distribution of hemoglobinopathy variants by ethnicity in a multiethnic state. Genetic Epidemiol 1996;13:501-512.
3. Lisker R. Estructura genética de la población mexicana. México: Salvat, 1981.
4. Ruiz-Reyes G. Hemoglobinopatías y talasemias. En: Ruiz Arguelles GJ, ed. Fundamentos de hematología. México: Panamericana, 1994: 82-94.
5. Ruiz-Reyes G. Abnormal hemoglobins and thalassemias in Mexico. Rev Invest Clin 1998;50(2):163-170.
6. Peñaloza R, Lisker R. Marcadores genéticos. Importancia antropológica y genética. En: Guízar-Vázquez JJ, ed. Genética médica. México: Manual Moderno, 2001: 853-868.
7. Ingram VM. Gene mutation in human hemoglobin: the chemical difference between normal and sickle cell hemoglobin. Nature 1957;180:326-329.
8. Schmalzer EA, Lee JO, Brown AK, Usami S, Chien S. Viscosity of mixtures of sickle and normal red cells at varying hematocrit levels: implications for transfusion. Transfusion 1987;27:228-233.
9. Fabry ME, Kaul DK. Sickle cell vaso-occlusion. Hematol Oncol Clin North Am 1991;5:375-398.
10. Platt OS, Brambilla DJ, Rosse WF, Milner PF, Castro O, Steinberg MH, et al. Mortality in sickle cell disease: life expectancy and risk factor for early death. N Engl J Med 1994;330:1639-1644.
11. Poillon WN, Kim BC, Castro O. Intracellular hemoglobin S polymerization and the clinical severity of sickle cell anemia. Blood 1998;91:1777-1783.
12. Heredero L. Un programa de genética en un país en desarrollo: Cuba. Bol Sanit Panam 1993;115:32-39.
13. Ibarra B, Vaca G, Franco-Gamboa E, García-Cruz D, de la Mora E, Castro-Felix LP, et al. Abnormal hemoglobins in Northwestern Mexico. Acta Anthropogenet 1982;6(4):217-223.
14. Lisker R, Ramirez E, Perez-Briceño R, Granados J, Babinsky V. Gene frequencies and admixture estimates in four Mexican urban centres. Hum Biol 1990;62:791-811.
15. Peñaloza R, García-Carranca A, Ceras T, Alvarez C, Berumen J, Salamanca F. Frequency of haplotypes in beta globin gene cluster in a selected sample of the Mexican population. Am J Hum Biol 1995;7:45-49.
16. Magaña MT, Ongay Z, Tagle J, Bentura G, Cobián JG, Perea FJ, et al. Analysis of beta S and beta A genes in a Mexican population with african roots. Blood Cells Mol Dis 2002;28:121-126.
17. Serjeant GR. Natural history and determinants of clinical severity of sickle cell disease. Curr Opin Hematol 1995;2:103-108.
18. Sutton M, Bouhassira EE, Nagel RL. Polymerase Chain reaction amplification applied to the determination of b-like globin gene cluster haplotypes. Am J Hematol 1989;32:66-69.
19. Peñaloza R, Salamanca F. La anemia de células falciformes y la genética de la población mexicana. Gac Med Mex 1996;132:337-338. Disponible en: http://www.e-mexico.gob.mx/wb2/eMex/eMex_Los_Totonacas.
20. Peñaloza et al. (Gac Med Mex 1985;121:189-93)
21. Pagnier J, Mears JG, Dunda-Belkhdja O, Schaefer-Rego KE, Beldjord C, Nagel RL, et al. Evidence for the multicentric origin of the sickle cell hemoglobin gene in Africa. Proc Natl Acad Sci USA 1984;81:1771-1773.
22. Sebastiani P, Ramoni MF, Notan V, Baldwin, Steinberg NH. Genetic dissection and prognostic modeling of overt stroke in sickle cell anemia. Nat Genet 2005;37:435-440.
23. Powar D, Hiti A. Sickle cell anemia: beta S gene cluster haplotypes as genetic markers for severe disease expression. Am J Dis Child 1993;147:1197-1202.
24. Ruiz-Cruz ED, Hernández-Maya MA, García-Azuara JN, Nieva B, Salamanca F, Peñaloza R. Anemia de células falciformes y niveles de hemoglobina fetal en una muestra de la población mexicana. Rev Med IMSS 2003;41:299-303.
25. Hankins JS, Helton KJ, McCarville MB, Li CS, Wang WC, Ware RE. Preservation of spleen and brain function in children with sickle cell anemia treated with hydroxyurea. Pediatr Blood Cancer 2007; [Epub ahead of print] PubMed 17554794.
26. Heredero-Baute L. Community-based program for the diagnosis and prevention of genetic disorders in Cuba. Twenty years of experience. Comm Genet 2004;7:130-136.
27. Disponible en: <http://www.phm.umds.ac.uk/haemscreening/downloads/POLICY%20DECISION%20FOR%20IMPLEMENTING%20NEONATAL%20SCREENING.pdf>.
28. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs308/es/index.html>.