

CONTRIBUCIONES ORIGINALES

HEMOGLOBINAS ANORMALES Y ELEVACION DE HEMOGLOBINA A2 E ISOENZIMAS DE ANHIDRASA CARBONICA ERITROCITICA EN POBLACION HOSPITALARIA DE PUEBLA *

GUILLERMO RUIZ-REYES, ‡ ° MA. DE JESÚS RAMÍREZ-ZORRILLA, °
ROSA MARÍA DÍAZ-CARRASCO, ° CLARA LUZ PÉREZ-PEREDO, °
BEATRIZ GARCÍA ° y SALVADOR IBARRA-OROPEZA §

Se estudió la frecuencia de hemoglobinas anormales en 3 886 especímenes de sangre escogidos al azar en una población hospitalaria de la ciudad de Puebla. En 2 886 se investigó adicionalmente la presencia de elevaciones de la fracción A2 de la hemoglobina y de las isoenzimas de anhidrasa carbónica eritrocítica. En este grupo se incluyó también la investigación de hemoglobinas inestables.

Se encontraron tres sujetos con hemoglobina A + S, uno con hemoglobina A + C y dos portadores de hemoglobina México. En seis casos se observó elevación de la fracción A2 de la hemoglobina y en 16, aumento de las isoenzimas de anhidrasa carbónica eritrocítica. No se encontraron hemoglobinas inestables.

* Presentado en la sesión ordinaria de la Academia Nacional de Medicina, celebrada el 3 de mayo de 1972.

‡ Académico correspondiente.

° Hospital Civil de Puebla.

§ Hospital Regional del Instituto Mexicano del Seguro Social, Puebla.

La identificación de sujetos portadores de hemoglobinas anormales o con trastornos de la síntesis de la hemoglobina, se inició en nuestro país con los hallazgos efectuados hace más de veinte años por Muñoz y Lavalle,¹ a los que más tarde se agregaron nuevos casos estudiados esporádicamente^{2-12, 36} u observados en el curso de encuestas orientadas a descubrir este tipo de trastornos hereditarios de la molécula de la hemoglobina.¹³⁻²⁴

Desde las primeras observaciones efectuadas en 1950¹ hasta 1960²⁻⁶ el número de sujetos identificados con este tipo de anomalías era muy reducido. A partir de 1962, en que se iniciaron las investigaciones orientadas a descubrir en forma intencionada este tipo de padecimientos y se difundieron las técnicas básicas para identificarlos, el número de casos descubiertos se ha acrecentado, particularmente en habitantes de ciertas zonas del país en donde ha existido inmigración negra en el pasado, entre los que se ha comprobado una frecuencia elevada de portadores de hemoglobina S,^{19, 20} así como en personas originarias o no del Mediterráneo, entre quienes no es excepcional descubrir pacientes que padecen de talasemia.^{3, 4, 7, 23}

Con el propósito de contribuir al conocimiento de la frecuencia y variedades de hemoglobina que se encuentran en la ciudad de Puebla, se inició, desde hace cuatro años, una encuesta en población hospitalaria orientada en este sentido. En una comunicación anterior se refirieron los resultados obtenidos en la primera fase de la exploración. En el presente trabajo se agregan los resultados de la segunda fase, integrando de esta manera un estudio basado en una casuística mucho más amplia.

Material

Se estudiaron 3 886 sangres de sujetos adultos escogidas al azar, entre las obtenidas para estudios rutinarios en el Laboratorio de Hematología del Hospital Regional del I.M.S.S. de Puebla. Se omitieron en el estudio las de niños menores de un año y para evitar que se repitiera el examen en un mismo individuo, se tuvo particular cuidado en la selección de los números de clave.

Método

Se usó EDTA al 6 por ciento como anticoagulante y las muestras se refrigeraron entre 4 y 10° C. En la mayoría de los casos el hemolizado para el estudio electroforético se preparó el propio día de efectuada la extracción o 24 horas después, cuando más tarde.

Primera fase. Se estudiaron en total 1 000 muestras y el estudio electroforético en este grupo se practicó empleando papel como medio de soporte²⁵ y amortiguador de barbital de pH 8.6.

Segunda fase. En este grupo se incluyeron 2 886 especímenes y el estudio electroforético se efectuó en microzona de acetato de celulosa, usando el sistema *SepraTek* de *Gelman*²⁶ en amortiguador de tris-EDTA-borato de pH 8.6. Con el medio de soporte utilizado, es posible apreciar, además de las anomalías de motilidad electroforética de la hemoglobina, las elevaciones de la fracción A2 y de las isoenzimas B y C de anhidrasa carbónica. Cuando en el sistema de microzona se sospechaba, por apreciación visual, algún aumento de estas fracciones proteínicas menores, se confirmó el hallazgo por cuantificación con otro procedimiento.²⁷

En las 2 886 muestras obtenidas en la segunda fase de la encuesta, se investigaron adicionalmente hemoglobinas inestables mediante la prueba de precipitación con calor²⁴ y cuerpos de Heinz.^{28, 29} En las dos fases de la exploración y sólo en los casos que lo ameritaron, se hizo la prueba de inducción de los drepanocitos.³⁰ En los *propositus* y en los familiares portadores de hemoglobinas anormales, se efectuaron adicionalmente recuento de reticulocitos, determinación de bilirrubina y se estudio la fragilidad globular a las soluciones salinas hipotónicas por métodos convencionales.

Resultados y discusión

Hemoglobinas anormales

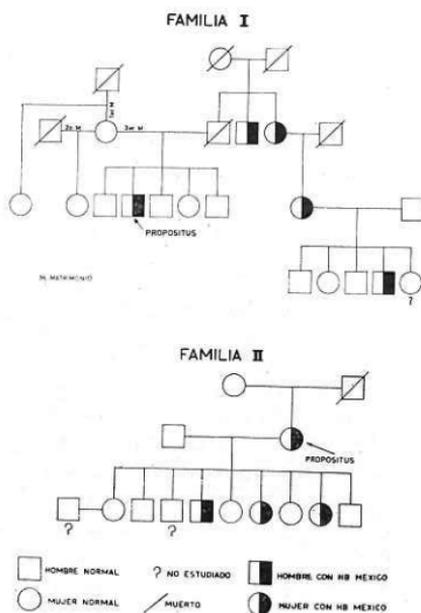
En el cuadro 1 se resumen los resultados obtenidos en 3 886 muestras estudiadas. En total, se encontraron 6 sujetos portadores de hemoglobinas anormales.

Hemoglobina A + S. Se observaron 3 sujetos con esta anomalía de la hemoglobina y en todos la prueba de la inducción de los drepanocitos fue positiva. El primero, originario de Coatzacoalcos, Ver., tenía rasgos negroides y en uno de dos de sus descendientes se demostró el mismo tipo de anomalía. El segundo caso corresponde con una mujer originaria

Cuadro 1 Hemoglobinas anormales y elevaciones de hemoglobina A2 y de anhidrasas carbónicas eritrocíticas en población hospitalaria de Puebla

No. de casos	En 2 886	En 3 886
Hb. A + S		3
Hb. A + C		1
Hb. A + México		2
Hemoglobinas inestables	0	
Hemoglobina A2 alta	6	
Anhidrasas carbónicas eritrocíticas elevadas	16	

HEMOGLOBINAS ANORMALES



1 Arbol genealógico de los dos casos de hemoglobina México.

de Acapulco, de apellido holandés, blanca y con el pelo crespo como único rasgo negroide. El tercer caso fue el de un sujeto originario de la ciudad de Puebla, sin características negroides.

Hemoglobina C. Se identificó un sujeto heterocigoto para esta variedad de hemoglobina, demostrándose también en uno de los padres.

Hemoglobina México. El primer hallazgo se hizo en un paciente mestizo, sujeto a tratamiento de tuberculosis pulmonar y en cuatro familiares más, de quince estudiados (fig. 1). La identificación de la anomalía aminoacídica fue realizada por el doctor H. Lehmann³¹ de la Universidad de Cambridge, Inglaterra, a donde se remitieron muestras de sangre.

Desde el punto de vista clínico y hematológico, los familiares del *propositus*, portadores de esta variante de hemoglobina son normales.

El segundo caso con hemoglobina México se encontró en una mestiza que padece cirrosis-alcohol-nutricional. De diez familiares estudiados, tres son portadores de la misma anomalía. Desde el punto de vista clínico y hematológico son todos sanos. Examinando el árbol familiar (fig. 1) puede apreciarse que ambos sexos están afectados y que el patrón hereditario es compatible con un gen dominante autosómico. Como en la primera familia, no se encontraron anomalías clínicas ni hematológicas en los portadores.

Se enviaron muestras de sangre de la *propositus* y de sus familiares al Laboratorio de Hematología Experimental del doctor Tulio Arends en Caracas, Venezuela, quien ha comprobado que se trata de hemoglobina México.

Las familias estudiadas con hemoglobina México son la tercera y la cuarta identificadas en la República Mexicana con esta anomalía. Cabe señalar que la posibilidad de que pueda existir algún parentesco con los otros casos encontrados^{16, 22} es muy remota, por radicar en regiones alejadas unas de las otras. Resulta difícil explicar la razón por la cual este tipo de mutaciones raras pueden presentarse en individuos sin parentesco alguno, fenómeno que por otro lado se ha podido demostrar en otras variantes de la hemoglobina. En el caso particular de la México, esta situación se hace más notoria, debido a que su hallazgo no se ha confinado a tres familias mexicanas, sino que ha podido demostrarse en mestizos de Colombia,³² en una mujer originaria

de Cerdeña³⁰ y en el Norte de África,³⁴ elevando con ello a siete el número de portadores de hemoglobina México identificadas en el mundo.

Arends³⁸ considera que existen dos posibilidades de explicar el hallazgo de hemoglobinas anormales idénticas en zonas geográficas diferentes. Una sería que la mutación se efectúa en forma independiente en estas poblaciones, lo que indirectamente hablaría en favor de que estas mutaciones se realizan en alguna área de la molécula de la hemoglobina propensa a mutar, cuando se desencadenan mecanismos capaces de provocarla. La otra explicación sería que esas poblaciones tienen un origen común, lo que resulta difícil de comprender en poblaciones tan distantes una de la otra como México, Cerdeña, Colombia o el Norte de África.

Hemoglobinas inestables

La investigación de este raro tipo de hemoglobinas anormales, se hizo mediante la prueba de precipitación con el calor y la investigación de cuerpos de Heinz. No se encontró, en 2 886 especímenes estudiados, ninguno que precipitara con el calor o demostrara cuerpos de Heinz. Esto apoya lo infrecuente de este tipo de hemoglobinas anormales.

Hemoglobina A2 elevada

La elevación de la fracción A2 de la hemoglobina se ha considerado como un fenómeno habitual presente en los portadores de talasemia beta. En la encuesta realizada, los niveles de hemoglobina A2 se investigaron en 2 886 especímenes, demostrándose elevación de esta fracción en seis casos. Es aventurado concluir que estas cifras reflejen la frecuencia de este defecto de la síntesis de la hemoglobina

en la población hospitalaria de Puebla, tanto porque no fue posible estudiar a los familiares de los sujetos para demostrar el carácter hereditario de la anomalía y los cambios hematológicos asociados, como porque no puede desecharse que algunos de ellos hayan sido enfermos de paludismo, situación patológica en la que Arends³³ ha demostrado elevación de la hemoglobina A2. Esta posibilidad no es remota, aun cuando en la ciudad de Puebla no exista el paludismo en forma autóctona, pues no es infrecuente que se atiendan pacientes procedentes de zonas palúdicas en la institución hospitalaria en donde se realizó la encuesta. Esta consideración no excluye la ausencia del gen de la talasemia beta, ya que se han demostrado en forma esporádica^{7, 35} y en una encuesta efectuada en población de origen italiano aldeaña a Puebla,²³ casos evidentes de talasemia beta, a tal punto que no es improbable que este defecto de síntesis de la hemoglobina sea la alteración más frecuente observada en esa ciudad, particularmente entre sujetos de origen libanés.

Elevación de las isoenzimas de anhidrasa carbónica eritrocítica

La cuantificación de isoenzimas de anhidrasa carbónica eritrocítica mediante electroforesis en poliacetato de celulosa²⁷ es un procedimiento al que se le ha atribuido especificidad y sensibilidad adecuadas para detectar eritropoyesis megaloblástica sin recurrir a la punción de médula ósea.⁴¹⁻⁴³ Su medición se realiza en forma simultánea a la de la hemoglobina A2, ventaja técnica que indujo a incluir en la segunda fase de la encuesta la frecuencia de sus elevaciones. En este grupo de 2 886 muestras, 16 mostraron elevacio-

nes enzimáticas por arriba de los niveles normales.

Es posible que esta cifra refleje en forma aproximada la frecuencia de eritropoyesis megaloblástica de grado variable presente en esa población hospitalaria, aun cuando debe considerarse la influencia de otros estados patológicos que pueden elevar las concentraciones de anhidrasa carbónica eritrocítica, como ha sido señalado para el hipotiroidismo.³⁷

Los autores agradecen a los doctores Herman Lehmann y Tulio Arends la colaboración que les prestaron al realizar la caracterización bioquímica de las hemoglobinas México. Agradecen también las facilidades que les otorgó el doctor Rubén V. Victoria, jefe del Laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital Regional del I.M.S.S. de Puebla, para la obtención de las muestras estudiadas.

REFERENCIAS

1. Muñoz, J., y Lavalle, A.: *Un caso de anemia en células en hoz y drepanocitemia*. Bol. Méd. Hosp. infant. (Méx.). 7:3, 1950.
2. Muñoz Turnbull, J.: *Dos casos de anemia del Mediterráneo observados en México*. GAC. Méd. Méx. 82:449, 1952.
3. Soto Allande, R.; Dorantes Mesa, S.; Castrejón, O., y Velasco, C.: *Un caso de talasemia mayor*. Bol. Méd. Hosp. infant. (Méx.). 12: 637, 1955.
4. Soto Allande, R.; Dorantes Mesa, S.; Castrejón, O., y Velasco, C.: *Talasemia mayor y esplenectomía*. GAC. Méd. Méx. 86:123, 1956.
5. Dorantes, S.; Soto Allande, R., y Biagi, F.: *Un caso de anemia africana con esquizontes de P. falciparum en sangre periférica*. Bol. Méd. Hosp. infant. (Méx.). 17:229, 1960.
6. Belloq, M., y Sierra, L.: *Neerosis aséptica de la cabeza del fémur en anemia africana*. Bol. Méd. Hosp. infant. (Méx.) 17:603, 1960.
7. Ruiz Reyes, G.; Ibarra Oropeza, S., y Suárez Puerto, A.: *Talasemia. Observaciones en una familia*. Medicina 42:145, 1962.
8. Sánchez Meda, L.; Lisker, R.; Torre, E., y Loria, A.: *Drepanocitosis en cuatro familias mexicanas*. Rev. Invest. Clín. 14:375, 1962.
9. Pérez Flores, C.; Alvarez Amaya, C.; Dorantes Mesa, S., y Arias Elenes, N.: *Anemia africana*. Bol. Méd. Hosp. infant. (Méx.). 22:463, 1965.
10. Cañizares-Proañón, C., y Varela Torres, G.: *Hemoglobina UNAM. Una nueva hemoglo-*

- bina anormal. I. Estudio de identificación. Bol. Inst. Est. Biol. Mex. 23:75, 1965.
11. Arias y Arias, J., y De la Rosa, L.: Hemoglobiopatía S-C en una familia mexicana. Memorias del XII Congreso Int. de Ped. 3: 685, 1968.
 12. Bello, A.; Dorantes Mesa, S.; Alvarez Amaya, C.; Barrios, J., y Sedas, T.: Hemoglobina D-Punjab en una familia mexicana, con dos casos clínicos de hemoglobiopatías S-D. Rev. Invest. Clín. 21:489, 1969.
 13. Sutton, H. E.; Matson, G. A.; Robinson, A. R., y Koucky, R. W.: Distribution of haptoglobin, transferrin and hemoglobin types among Indians of Southern Mexico and Guatemala. Amer. J. Human Genet. 12:338, 1960.
 14. Lisker, R.; Loria, A., y Ruiz Reyes, G.: Frecuencia de hemoglobinas anormales en México. Proc. IX Congr. Int. Soc. Hemat. 1962.
 15. Lisker, R.; Loria, A.; González Llavén, J.; Gutman, S., y Ruiz Reyes, G.: Note préliminaire sur la fréquence des hemoglobines anormales et de la deficiencia en glucose-6-phosphate deshydrogenase dans la population mexicaine. Rev. Franc. de Etud. Clin. et Biol. 7:76, 1962.
 16. Lisker, R.; Ruiz Reyes, G., y Loria, A.: Studies of several genetic hematologic characteristics of the Mexican population. IV. The finding of a fast hemoglobin component (Hemoglobin Mexico) in an Indian family. Blood. 22:342, 1963.
 17. Matson, G. A.; Sutton, H. E.; Swanson, J., y Robinson, A. R.: Distribution of haptoglobin, transferrin, and hemoglobin types among Indians of middle America: Southern Mexico, Guatemala, Honduras and Nicaragua. Human Biol. 35:474, 1963.
 18. Lisker, R.: Estudios sobre algunas características hematólogicas hereditarias en la población mexicana. II. Hemoglobinas anormales en 7 grupos indígenas y algunos mestizos. GAC. MÉD. MÉX. 93:289, 1963.
 19. Lisker, R.; Loria, A., y Córdoba, M. S.: Studies of several genetic hematologic traits of the Mexican population. VIII. Hemoglobins, glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency, and other characteristics in a malarial region. Am. J. Human Genet. 17:179, 1965.
 20. Lisker, R.; Loria, A.; Ibarra, S., y Sánchez Medal, L.: Estudio sobre las características genéticas y hematólogicas en la Costa Chica de Oaxaca y Guerrero. Salud Pùb. Méx. 7: 45, 1965.
 21. Lisker, R.: Características genéticas hematólogicas de la población mexicana. GAC. MÉD. MÉX. 95:1027, 1965.
 22. Lisker, R.; Zárate, C., y Loria, A.: Abnormal hemoglobins and erythrocytic glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in several Indian tribes. Blood. 27:824, 1966.
 23. Lisker, R.; Ruiz Reyes, G.; López, G.; Peral López, A. M., y Zárate, G.: Características hematólogicas hereditarias de la población mexicana. X. Estudio de una comunidad de origen italiano. Rev. Invest. Clín. 18:11, 1966.
 24. Lehman, H., y Hunstam, R. G.: Man's haemoglobins. Amsterdam. North Holland Publishing Company, 1966.
 25. Smith, E. W., y Conley, C. L.: Filter paper electrophoresis of human hemoglobins with special reference to the incidence and clinical significance of hemoglobin C. Johns Hopk. Hosp. Bull. 93:94, 1953.
 26. Electrophoresis procedures using the Gelman SeptraTek System. Technical Bulletin. Ann Arbor, Gelman Instrument Company, 1969.
 27. Ruiz Reyes, G., y Ramírez Zorrilla, M. J.: Rapid measurement of erythrocyte carbonic anhydrase isozymes by means of cellulose acetate membrane electrophoresis. Amer. J. Clin. Path. 50:677, 1968.
 28. Ruiz Reyes, G.; García, B.; Ibarra Oropeza, S., y Peral López, A. M.: Hemoglobinas anormales en una población hospitalaria de la ciudad de Puebla. Libro de Resúmenes de la Agrupación para el Estudio de la Hematología, 1967.
 29. Fertman, M. H., y Fertman, M. B.: Toxic anemias and Heinz bodies. Medicine 34:131, 1955.
 30. Daland, G. A., y Castle, W. B.: Simple and rapid method for demonstrating sickling of red blood cells: Use of reducing agents. J. Lab. Clin. Med. 33:1028, 1948.
 31. Lehmann, H.: Comunicación personal.
 32. Echavarría, R.: Comunicación personal.
 33. Arends, T.: High concentrations of hemoglobin A2 in malaria patients. Nature. 215: 1717, 1967.
 34. Labie, D., y Rosa, J.: Sur une nouvelle hemoglobine anormale: l'hemoglobine J (α 54 glutamine-glutamique). Nouv. Rev. Franc. d'Hematol. 6:426, 1966.
 35. Ruiz Reyes, G.: Observaciones no publicadas.
 36. Zarain García, A.; Díaz Carrasco, R. M.; Ferreira, O., y Ruiz Reyes, G.: Hemoglobina S-talasemia beta. Estudio de un caso. Medicina 51:567, 1971.
 37. Weatherall, D. J., y McIntyre, P. A.: Developmental and acquired variations in erythrocyte carbonic anhydrase isozymes. Brit. J. Haemat. 13:106, 1967.
 38. Arends, T.: Hemoglobinopathies and enzyme deficiencies in Latin American populations. En: Ongoing evolution of Latin American populations. Springfield, Charles C Thomas, 1971.
 39. Quattrin, N., y Venturo: Hemoglobin Mexico in a Sardinian woman. Helv. Med. Acta. 33:388, 1967.
 40. Arends, T.: Comunicación personal.
 41. Ruiz Reyes, G.; Ibarra Oropeza, S.; Ramírez Zorrilla, M. J., y Castro, R.: Utilidad clínica de las variaciones de isoenzimas de anhidrasa carbónica eritrocítica en la detección de eri-

- tropoyesis megaloblástica*. Rev. Inv. Clin. 20: 463, 1968.
42. Ruiz Reyes, G.: *Eritropoyesis megaloblástica y anhidrasas carbónicas eritrocíticas*. GAC. MÉD. MÉX. 99:345, 1969.
43. Ibarra Oropeza, S.; Ruiz Reyes, G.; Loria,

A.; Ramírez Zorrilla, M. J.; Mendoza López, M., y García García, O.: *Variations des isoenzymes d'anhydrase carbonique erythrocytaire dans l'erythropoiese megaloblastique consecutive a la therapie anticonvulsive*. Rev. Europ. Etud. Clin. Biol. 15:765, 1970.

COMENTARIO OFICIAL

RUBÉN LISKER *

En 1965, en la introducción a mi trabajo de ingreso a esta Corporación, recordaba que en 1873 cuando ella tomó el nombre de Academia de Medicina de México, decidió hacer indefinido el número de socios correspondientes para que "diseminados en la extensión de nuestro vasto territorio, enviaran noticias del clima de los lugares que habitan, de su inexplorada flora y de su desconocida fauna; hicieran conocer las aguas medicinales y las enfermedades endémicas, y se pudiera con el tiempo, formar la geografía médica de nuestro país". El trabajo que acabamos de escuchar llena perfectamente los objetivos planteados desde 1873 los que, a pesar del tiempo transcurrido, no han sido llenados.

En efecto, hemos aprendido que en la ciudad de Puebla el número de personas portadoras de hemoglobinas anormales es relativamente bajo y que su presencia depende, en lo que se refiere a las hemoglobinas S y C, de la inmigración a esa ciudad de individuos procedentes de las costas del país. En relación a la hemoglobina México, es de interés que además de las dos familias descritas en este tra-

* Académico numerario. Instituto Nacional de Nutrición.

bajo, una de las dos previas, corresponde a un grupo nahua de la sierra de Puebla y la otra a un indígena mazateco residente en el estado de Oaxaca, colindante con el de Puebla. Todo esto sugiere la posibilidad de un origen común remoto de la hemoglobina México en nuestro país, aun cuando debamos aceptar que, tal como lo señala el doctor Ruiz Reyes, la posibilidad de un origen común con las muestras encontradas en otras partes del mundo, es muy remota.

En relación a la hemoglobina A2 elevada y el hallazgo de elevación de las isozimas de anhidrasa carbónica eritrocítica, hubiera sido deseable conocer la causa de dichas anomalías para redondear el estudio. Me imagino que para el futuro el doctor Ruiz Reyes piensa aclarar esta situación.

El trabajo que comento señala otro hecho importante: muestra cómo es posible realizar estudios de importancia en la provincia a pesar de las limitaciones materiales que poseen. Enseña que lo más importante en cualquier empresa que se ejecuta es la calidad del hombre que la realiza y, en mi opinión, la del doctor Ruiz Reyes debe considerarse como de primera categoría.

México se halla construido sobre un inmenso lago en desecación, el cual durante siglos enteros estuvo impregnando sus terrenos con el contenido de sus aguas: entonces las intermitentes comunes y las perniciosas, conocidas con el nombre de cocolixtli por los indios, aparecían todos los años: la diversión de las aguas pluviales por el corte de Notchistongo y la desecación de la costra superficial de los terrenos fueron haciendo desaparecer las endemias de intermitentes, y la cubierta de los canales que atravesaban la ciudad, y la regular corriente que tenían al lago de Texcoco, llegaron casi a agotarlas. (Reyes, J. M.: *Intermitentes perniciosas*. GAC. MÉD. MÉX. 10:225, 1875.)