

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias Medicas

PRELIMINAR DE LAS HEMOGLOBINAS EN GUATEMALA

ON DEL MÉTODO DE DISOCIACIÓN ELECTRO FORÉTICA DE LAS HEMO-
EN UNA SERIE DE CASOS OBTENIDOS DE INDÍGENAS PUROS, Y EN UN
GRUPO MIXTO, DE LA POBLACIÓN DE AMATITLÁN.

TESIS

presentada a la Junta Directiva de la Facultad
de Ciencias Medicas de la Universidad de San
Carlos de Guatemala por

CARLOS RENÉ PÁIZ HERNÁNDEZ

Practicante Interno de los Servicios 2a. Medicina de Hombres,
Ex-Practicante Interno del Servicio de Medicina Aislamiento del
Hospital San Vicente. Ex-Practicante Interno del Servicio de lo. Ci-
rugía de Mujeres. Ex-interno del Servicio de Patología del Hospi-
tal General. Ex-interno del Servicio de Maternidad del Hospital
Roosevelt.

En el acto de su investidura de

MEDICO Y CIRUJANO



NOVIEMBRE DE 1959

INTRODUCCION

A raíz de las importantes observaciones de Pauling (17) Singer (24), y Wells (26) sobre la presencia de hemoglobinas anormales en la sangre de pacientes con anemias de tipo familiar, se ha difundido un método fácil para el estudio de las hemoglobinas, el cual ha aportado nuevos conocimientos en el estudio de las anemias, así mismo ha contribuido para el estudio antropológico y genético de las comunidades estudiadas. Hemos pensado que la investigación de las hemoglobinas anormales en nuestro medio sería importante ya que:

- 1.- No habiéndose efectuado anteriormente ninguna investigación de éstas, un estudio de tal naturaleza sería una contribución al mejor conocimiento antropológico de la población guatemalteca.
- 2.- Tratar por medio de las hemoglobinas de conocer más la genética de los innumerables grupos indígenas de nuestro suelo.
- 3.- Investigar en la población mixta que tuviese mezcla con elementos africanos, hemoglobinas anormales, por ser en ésta raza donde predominan.
- 4.- Hacer un parangón con las observaciones de Allison, Rapaport (30) y otros, quienes sostienen que la presencia de la hemoglobina de la sickle cell anemia, confiere cierta protección al individuo en contra de la infección con *Plasmodium Falciparum*.

Para el efecto haremos en primer término una primera revisión estadística é histórica, y mencionaremos algunos datos etnológicos y etnográficos de lo que interesa al presente estudio; y seleccionaremos con base en esto los pueblos donde predomine el elemento indígena o el africano para investigar el tipo de hemoglobina. En 1940 las clasificaciones raciales usadas por el censo de Guatemala consistían en cinco categorías:

tegorías, blanca, mestiza, indígena, negra y amarilla. Sin embargo, al llevar a la práctica esta clasificación se encontró la dificultad de como distinguir estos grupos, ya que la mayoría de la población está formada por diferentes grados de mezcla entre ellos. Como resultado de esta dificultad y debido a que la representación numérica de algunos grupos resultó ser muy pequeña, las autoridades del Censo de 1950 clasificaron a la población en dos categorías: ladinos e indígenas. (2) Debido a esto la información estadística reciente, se encuentra solo basada en estos dos grupos; sin embargo, salta a la vista que esta clasificación no es satisfactoria debido a la gran variación entre ellos y que en muchos casos la línea divisoria no puede distinguirse. El término indígena se refiere a los descendientes de los habitantes de la pre-conquista y el término ladino a la población de ascendencia caucásica; sin embargo, esta definición no es fija, ya que el término ladino, en la actualidad, se define más bien desde un punto de vista cultural. La mayoría de los habitantes de Guatemala, de acuerdo con esta clasificación son indígenas (54%), en comparación al (45%) de ladinos.

La investigación del indígena puro se ha hecho basándose en estudio y clasificación de los pueblos, lenguas y costumbres de Guatemala, estudio que ha sido presentado en la excelente monografía de Stoll, (28), la cual señala, que en la actualidad, uno de los centros de mayor interés etnológico para la cultura indígena de Guatemala es la de los pueblos ubicados en el altiplano de la República. Si se trata de demostrar cartográficamente, la distribución actual de los indígenas guatemaltecos puros, nos encontraremos con una mayor densidad en el Occidente y en las tierras del Norte, denominadas Alta Verapaz, mientras que los distritos centrales y la vertiente del Pacífico mostrarían un estamento indígena mezclado en mayor escala con ladinos. De las antiguas fronteras lingüísticas poco sabemos a punto fijo, ya que estas han sufrido alteraciones en el transcurso del tiempo históricamente reconocible y antes de él

Con el objeto de superar estos obstáculos y catalogar adecuadamente las poblaciones indígenas puras, el Instituto Indigenista, basándose en estudios previos etnológicos, etnográficos y antropológicos sociales, ha investigado la incidencia de grupos sanguíneos que pueden ser un factor decisivo en la identificación de la raza pura. Así esta Institución nos ha dado ya un primer grupo de muestras de los pueblos que denominan el altiplano, abarcando un área extensa que comprende el grupo Mame, Quiché, Ixil, y de la insula Aguacateca.

Sabemos por las versiones históricas de los escritores de la Colonia que el suelo guatemalteco ha sufrido numerosas inmigraciones de negros esclavos, traídos del África los cuales se mezclaron rápidamente tanto con el indígena puro como con el ladino, descendiente de los conquistadores. Esta mezcla con el negro fué tan importante que en numerosas poblaciones esta raza fué absorbida muy pronto por la población mestiza. Siendo el objeto de esta investigación el encontrar si fuera posible, hemoglobinas que por su carácter genético son más frecuentes en la raza negra, tuvimos que investigar previamente que poblaciones de Guatemala serían un lugar adecuado para esta investigación, y talvés representativo de la población mezclada con sangre negra.

Fuentes y Guzmán en su RECORDACION FLORIDA, Thomas Gage, (4) en sus VIAJES POR TIERRAS Y MARES, en las crónicas de Remesal (7) y de Ximénez (8), tanto así como en las memorias de Fray Antonio Molina (9); se dan datos que nos informan que a la sombra del convento dominico se halla al africano, haciéndose manifiesto principalmente después de las luchas de Fray Bartolomé de las Casas quien hizo que el indígena fuera sustituido por el negro en los trabajos pesados en las minas, en el cultivo del añil y de la caña de azúcar, suministrando en gran parte la servidumbre para los sacerdotes en los conventos. Esta afluencia de negros se hace manifiesta en las Verapaces, Mixco, y precisamente en Amatitlán, en las riberas del Polochic, en las que se observa mezcla de ele -

mentos de España con Africanos, que en la actualidad han sido absorbidos por los indígenas dándole a la población moderna los rasgos faciales característicos de ésta. En las vertientes del Pacífico, como decíamos, el elemento negro se ha mezclado con el indígena y europeo. Esto ha sido corroborado estudiando las hemoglobinas anormales por Bloch en Zaca-tecoluca, y la Unión, donde este investigador encontró dos casos Homocigotos SS, y un Heterocigoto AS. (6)

En éste estudio no entramos - ha considerar las comunidades negras puras que se encuentran en Livingston - y Puerto Barrios, ya que éstas se han conservado más o menos bien definidas y sin mezcla desde tiempos de la Colonia. Por ese motivo es que decidimos estudiar las hemoglobinas anormales en las poblaciones: Amatitlán, (mezcla de negro, ladino indígena) y poblaciones del Altiplano, (raza indígena pura). (1) (3) (5)

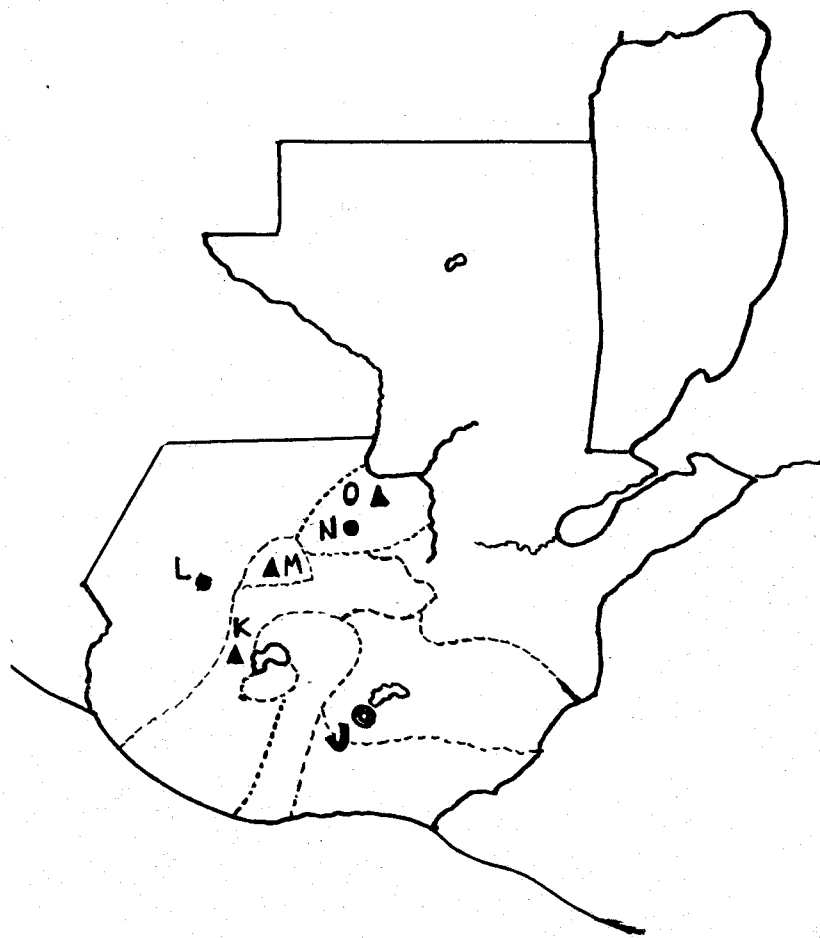
MATERIAL

Se desprende de lo dicho anteriormente, la importancia de seleccionar dos grupos principales, indígenas puros y población mixta, que llevé a cabo de la siguiente manera:

MATERIAL DE ESTUDIO: TOTAL 93 ESPECIMENES

letra	poblaciones	No. de Casos	Grupos
K	San Andres Xecul	7 casos	Quiché
L	San Sebastián, Huehuetenango	6 casos	Mame
M	Aguacatán	3 casos	Aguacateca
N	Nebaj	5 casos	Ixil
O	Chajul	6 casos	Ixil
	Total	27 casos	
J	Amatitlán, Hospital Nacional	21 casos	Indígenas grupo
J	Amatitlán, Servicio de Salud Pública	45 casos	Poconchi, ladinos, negros
	Total	66 casos	

Para mejor comprensión de la situación geográfica-etnológica de estos grupos de población, reproducimos el mapa tomado del libro de Stoll, localizando con la letra "J" la población de Amatitlán, y con las letras "K", y "L", "M", "N" y "O" respectivamente las poblaciones de San Andrés, San Sebastián, Aguacatán, Nebaj y Chajul.



METODO

Para el estudio de las hemoglobinas se han empleado numerosos métodos, los cuales han permitido aislar, hasta principios de este año (1959) veintinueve distintos tipos. Entre los métodos usados se pueden distinguir, la electroforesis de zona con papel filtro (Bergren, Sturgeon e Itano 1954); electroforesis con gel de almidón (Smithies, 1955); electroforesis con bloque de almidón (Kunkel, 1954); electroforesis con gel de gelosa (Gilli y Pillai, 1956); electroforesis de límites libres (Zinsler, 1952); microelectroforesis (Warris, 1954) cromatografías en papel en columnas de almidón, en columnas de intercambio iónico (Vella y Lugg, 1957; Penati, 1955; Boardmann y Partridge, 1954); solubilidad (Goldberg, 1958); desnaturalización alcalina (Singer, Chernoff y Singer, 1951); desnaturalización ácida (Kleihauer, 1957); curvas de disociación de oxígeno (Allen, 1953); adsorción (Betke y Greinacher, 1954); por estructura cristalina (Perutz, 1951); espectro de absorción (Kunser y Drescher, 1956); especificidad inmunológica (Darrow, 1940); y diferencias estructurales en amino ácidos y en grupos sulfidrilos (Brawn, 1952; Riggs, 1952. De todos estos métodos, hemos escogido uno de los pocos que se encuentran a nuestro alcance: la electroforesis de zona; en este método hemos usado dos variantes: electroforesis en papel con cámara vertical y con cámara horizontal. En este último método usamos la técnica del bloque de almidón.*

Técnica: (Durrum, 1950; Motulsky, 1954 Schneider, 1953; Smith, 1953 y Spaet, 1953).

- a) Hemoglobina: consiste en un hemolizado de glóbulos obtenidos de sangre citratada o sangre coagulada.
- b) Reactivos: solución buffer con PH 8.6 y potencia ión

Nota: El método de la investigación de variantes de hemoglobina por medio de la desnaturalización alcalina está siendo llevado a cabo y será objeto de un trabajo posterior.

nica de 0.06, la cual se prepara calentando agua destilada hasta aproximadamente 80° C. a la cual se añaden 1.85 gm. de ácido barbitúrico, agitando hasta disolver completamente; a continuación se agregan 10.3 grm. de barbiturato sódico hasta disolución; se enfría; se completa a 1,000 ml. y se rectifica el pH inmediatamente con un potenciómetro Beckmann,

c) Colorante: Mezclar un gramo de azul de bromofenol y 25 gm. de bicloruro de mercurio en 1000 ml de alcohol metílico.

d) Líquido lavador: solución de bicloruro de mercurio al 1 % en alcohol metílico.

Equipo:

Numerosos aparatos para electroforesis en papel han sido ideados, variando las mas de las veces, solo en el sistema de cámaras, pero todas con el mismo principio. El aparato usado por nosotros corresponde al Spinco Mod. (Beckmann,.) y el cual consiste esencialmente en lo siguiente: (Williams, 1955).

La cámara comprende una sección basal (A) dividida en dos compartimientos para electrodos por una hoja de separación (B). En cada compartimiento, un sistema de muescas (C) impide a los productos de separación, alcanzar la división central (D), colocada también en una muesca central y que es el tabique de separación más alto. Los productos de los electrodos se desarrollan en la porción media, en los alambres de platino de esos mismos electrodos, que están montados a cada lado de ese tabique central. El soporte para secar (E) lleva tres varillas de vidrio siliconizadas (F) dispuestas de tal manera que pueden soportar el papel filtro en un arco suave que impide el que se rompan las fibras de papel (esto evita arrugas que pueden aparecer como artefactos al hacer la evaluación).

El soporte para secar (G) recibe las cintillas de papel filtro (H) suspendidas libremente en espículas de hule (I) y sobre una barra de acero inoxidable. Una llave de tornillo (J) permite fijar el soporte en la posición vertical u horizontal. La cubierta (K) está provista de una ranura para poner la muestra (L).

Al efectuar la electroforesis se sigue el siguiente procedimiento:

Los cuatro tabiques de plástico se colocan en las muescas correspondientes. Se coloca una hoja gruesa de papel filtro S y S, No. 470 a cada lado del tabique central, en las muescas apropiadas, con el objeto de que sirva de conexión y alimentación de las tiras de papel verticales.

Después, teniendo el soporte de secar abierto, se colocan ocho cintas de papel filtro previamente rotuladas (H) en las espículas de hule (I). El soporte se coloca suavemente en la cámara, de tal manera que la porción central de las tiras de papel se apoyen suavemente sobre las barras de vidrio siliconizadas, se afloja el tornillo de fijación y se dobla lentamente de las extremidades de las cintillas de papel para que entren en contacto con la hoja de papel filtro que sirve de conexión y alimentación. Se mide un litro del buffer y se vierten dos tercios del mismo en uno de los extremos de la cámara basal, más o menos igualmente dividida entre los dos compartimientos. Se pone la cubierta (K) en su lugar, el resto de la solución buffer se vierte cuidadosamente sobre las cintillas de papel verticales, utilizando un embudo especial, corto, utilizando la ranura superior de la cubierta (L). Si alguna de las cintillas de papel filtro se nota que cuelga defectuosamente se puede ajustar fácilmente con una varilla de cristal, de tal manera que la extremidad se ponga en contacto con la base formada por la hoja transversal de papel filtro que sirve de conexión (D). Se igualan los niveles de los compartimientos de electrodos. Se deja drenar durante 15 minutos el buffer que se vertió en las tiras de papel filtro. Se vierte la

muestra a través de la hendidura de la cubierta por medio de una pipeta o por medio de un aplicador especial. Después que se ha hecho pasar la corriente con el potencial eléctrico adecuado y por el tiempo necesario, se desconecta la cámara, se quita la cubierta, y se extiende el soporte de secado. Se lleva a la estufa, y se procede a la coloración (21)

El aparato para electroforesis en papel, usando cámara horizontal fué fabricado por nosotros en el laboratorio, y su descripción somera sigue a continuación.

El aparato consta de dos tanques separados de 500 cc. de capacidad ml. y que miden 6 por 23 por 7 cms. de largo. Ambos tanques se encuentran comunicados por medio de un tubo de polietileno, con el objeto de obtener un nivel semejante en ambas cámaras, al colocar el buffer. También se trata por medio de ésta comunicación, de evitar la posible acción de sifón que pudieran ejercer los líquidos al procederse a la electroforesis. Este tubo tiene una llave intermedia que lo cierra completamente una vez obtenido niveles semejantes, pues de lo contrario la corriente buscaría ésta vía más fácil.

Apoyándose sobre las dos cámaras laterales que contienen el Buffer y colocada en la porción media, entre ambos, está la caja de suspensión de las tiras de papel filtro, que es de material plástico que mide 25 por 23 cms. y que tiene además un lecho horizontal con espículas de plástico (Tipo Fakir) y donde se colocan las tiras de papel filtro. Los electrodos son de platino y están colocados en los tanques laterales. Una cubierta de plástico protectora cubre todo el aparato.

Para hacer funcionar el aparato se vierte el buffer en ambos tanques laterales aproximadamente 500 ml. y a continuación se colocan las tiras de papel filtro Whatman 3 MM previamente humedecidas con la solución Buffer, y de tal manera que los extremos de las mismas descansen verticalmente sobre otra tira de papel filtro SS 470 que se ha colocado previamente a lo largo de los tanques laterales, este papel filtro sirve de conexión y alimentador de las tiras de papel horizontales. Se cubre todo con la cubierta de plástico y se procede a la electroforesis.

En caso de aplicarse el bloque de almidón, procédase de

la manera siguiente: Fabríquese un marco con material plástico de 2 1/2 por 12 por 1 centímetro de altura, colocando éste sobre el papel filtro, el cual debe estar previamente humedecido en la solución buffer, viértase el almidón de papa recién fabricado antes de que se solidifique, en el marco hasta una altura de 2 mm, aproximadamente y con una varilla de vidrio tratar de hacer una película uniforme, déjese enfriar. Y para aplicar la hemoglobina humedezca un pedazo de papel filtro de 4 milímetros de diámetro en la solución de hemoglobina y deposítase sobre el almidón comprimiéndolo sobre éste moderadamente, considerése al finalizar éste pedazo de papel como el punto de partida.

3- Densitómetro:

Cuando fué necesario hacer la determinación cuantitativa de las hemoglobinas separadas por la electroforesis usamos un densitómetro comercial tipo R B Analytrol de la casa Spinco.

Duración del trazado: Para la separación de las hemoglobinas usamos una corriente continua de 350 voltios, con una duración promedio de 4 a 6 horas en la cámara vertical y de 6 a 8 horas en la cámara horizontal.

PROCEDIMIENTO:

Se prepara una solución de hemoglobina de aproximadamente 10 gr. %. Para hacerlo, se centrifuga la sangre a 2,000 r. durante 20 minutos, descartando el suero sobre bandeja. Lavar tres veces los glóbulos rojos con solución salina fisiológica, previa centrifugación. Hemolizar la sangre con agua destilada, (1 a 2 vol.) vertiendo ésta gota a gota. Añadir 0.1 ml. de tolueno y agitar con la mano durante 4 a 5 minutos. Centrifugar a 3,000 r. durante 20 minutos. Descartar las dos capas superiores (estroma de los eritrocitos y el tolueno). Filtrar. La solución de hemoglobina debe ser limpia

y transparente. Esta solución de hemoglobina puede usarse inmediatamente o a largo plazo, pues se conserva indefinidamente a 10° C. bajo cero.

- b) Procédase a la electroforesis.
- c) Después de terminada la migración de las hemoglobinas, retírense las tiras de papel y coloquense en el horno a 131° C. durante 30 minutos hasta que estén completamente secas. Hacer la tinción de las mismas, sumergiéndolas en la solución de colorante azul de bromofenol durante 6 minutos. Lávense a continuación con alcohol metílico, hasta que la tira se vuelve incolora y termínese con un nuevo lavado de alcohol metílico durante 5 minutos, dejar secar a la temperatura ambiente.

Cantidades de hemoglobina usada:

Para cada tira de papel utilizamos cantidades fijas, variando de acuerdo con las concentraciones de Hemoglobina en la solución original, siendo estas de 0.008 ml a 0.01 ml. Colocándola como se dijo antes. La aplicación de la muestra de hemoglobina al usar la cámara horizontal se hace de la siguiente manera: humedecer un pedazo de papel filtro redondo, de 4 mm. de diámetro, en la solución de hemoglobina; a continuación colocarlo sobre las tiras de papel filtro horizontal o comprimirlo moderadamente sobre el bloque de almidón. Tener cuidado de que la colocación de éste papel filtro sea en la parte media de la tira de papel.

Resultados:

El estudio de las hemoglobinas por medio de la electroforesis en papel tanto de tipo vertical como horizontal en 93 sujetos nos dieron los siguientes resultados (véase cuadro No. 1).

Tipos de Hemoglobina	No. de casos
Hemoglobina A	92
Hemoglobina A y Hemoglobina S	1

El estudio de los casos de individuos residentes en Amatitlán que en total fueron de 66 casos divididos en dos grandes grupos nos dió lo siguiente: (Véase cuadro número 2)

Total de casos	66
Hemoglobinas A	65
Hemoglobinas AS	1
Otras Hemoglobinas	0

La investigación que seguimos en el grupo indígena clasificado como raza pura dió el siguiente resultado: (Véase cuadro No. 3)

POBLACIONES	No. CASOS	GRUPO	Hgb
San Andrés Xecul	7 casos	Quiché	Hgb A
San Sebastián, Huehuetenango	6 casos	Mame	Hgb A
Aguacatán	3 casos	Aguacateca	Hgb A
Nebaj	5 casos	Ixil	Hgb A
Chajul	6 casos	Ixil	Hgb A

DISCUSION:

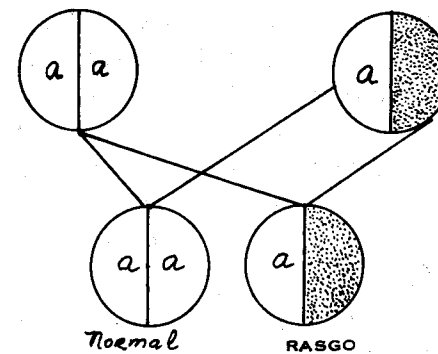
Debido a la confusión surgida por los rápidos avances científicos logrados por medio de la electroforesis en el estudio de las hemoglobinas se hizo necesario uniformar la nomenclatura. El servicio de Salud Pública de los Estados Unidos a través de la sección de hematología recomendó usar la siguiente nomenclatura, la cual ha sido aceptada internacionalmente así:

"A" para la hemoglobina normal, "F" para la fetal, "S" para la siclemia "C" y letras consecutivas del alfabeto para las hemoglobinas que fueran descubriéndose posteriormente. En estos últimos tiempos han sido descritos otros tipos de hemoglobina las cuales han tomado el nombre de la región en que fueron descubiertas, tales como la hemoglobina de Galveston (Schneider, 1957); hemoglobina Norfolk (Ager 1958); la hemoglobina del Vietnam del Sur por (Albahary 1958) etc. Se ha propuesto la letra "M" para las hemoglobinas descritas en las meta-hemoglobinemias por (Horlein y Weber 1948) y la letra "P" para la hemoglobina del prematuro, diferente de la "F", encontrada en los recién nacidos (Allison 1955). Cuando existiese una combinación de dos o más hemoglobinas deberá clasificarse primero la que existe en mayor cantidad así por ejemplo: el caso de un siclémico en que la hemoglobina "A" se encuentra en una proporción de 65 %, deberá escribirse hemoglobina "AS". En el trabajo que presentamos hemos seguido la clasificación y nomenclatura descritas.

El rasgo "AS" se ha encontrado en los negros americanos en una proporción de 7 a 9 % (15) y en el Africa desde 0.5 hasta el 45 % (14) variando esta proporción según las diferentes tribus y regiones. Esta incidencia tan alta de hemoglobina "S", en la raza negra permite concluir que la presencia de hemoglobina "S", en un alto sector de la población indica casi seguramente una mezcla con esa raza de color.

Aunque si bien es cierto que la hemoglobina "S" ha sido encontrada en ciertos nucleos de raza blanca tales como Italia y Sicilia (26) se piensa que este hallazgo positivo corresponda a una mezcla con africanos del Norte, en una época muy antigua, hecho que se corrobora con los conocimientos Antropológicos y Genéticos que poseemos de esas regiones. En nuestro estudio pudimos comprobar la presencia de un individuo que presentaba el rasgo heterocigoto de hemoglobina "S"; aunque este hallazgo no puede tener bajo ningún concepto valor estadístico alguno en el grupo de la población estudiada, la presencia de este tipo de hemoglobina en Amatitlán en un individuo ladino y sin rasgos antropológicos que permitiera identificarlo como perteneciente a la raza negra confirma de una manera absoluta que la clasificación en ladinos e indios, basados única y exclusivamente en los rasgos faciales y en el color de la piel no es exacta, y por el momento en Guatemala la única manera de descubrir probablemente estas mezclas raciales solo puede hacerse estudiando la presencia de hemoglobinas de éste u otro tipo. Este hallazgo nos obliga a pensar que la investigación de hemoglobinas debe extenderse a otros nucleos de población con el objeto de comprobar la pureza o mezcla de nuestra raza indígena. También estamos convencidos que la investigación de hemoglobinas en la población total de Guatemala es imposible, pero que el estudio de éstas en grupos de población representativos y seleccionados, es una de las mejores guías para el conocimiento Antropológico y Etnográfico de nuestro país.

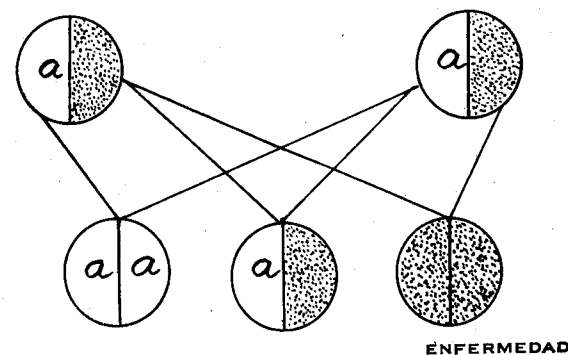
Por estudios genéticos se ha podido determinar que los tipos de hemoglobina humana con excepción de "P" y "F", están determinados por un doble par de genes alelomorfos. Este factor genético parece inherente y se rige de acuerdo con las leyes de Mendel, manifestándose en los individuos por variantes en la síntesis de la hemoglobina. El gen de una hemoglobina normal puede ser reemplazado por uno o dos de los determinantes alelomorfos de una hemoglobina anormal siendo entonces el individuo un heterocigoto para la hemoglobina normal A. (Figura No. 1).



$\frac{1}{2}$ = Gen de una Hgb anormal
puede ser S, C, D, E, G y probablemente H, I ó J.-

FIG. NO. 1

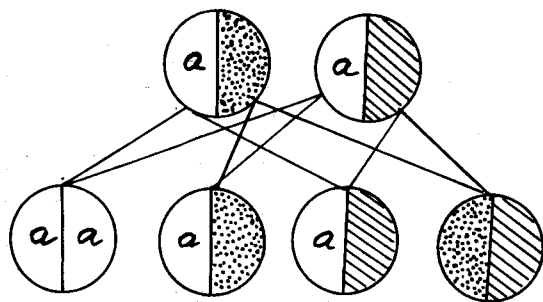
En contraste con el síndrome de heterocigotia de la hemoglobina tenemos el de la enfermedad del homocigoto. - En este caso ambos alelomorfos de la hemoglobina normal se encuentran reemplazados por genes iguales de hemoglobina patológica. Un gen simple puede ser transmitido a la siguiente generación, y de acuerdo con las leyes de la herencia se pueden presentar las siguientes posibilidades (Fig. No. 2)



$\frac{1}{2}$ = Gen para una Hgb anormal
puede ser S, C, D, E ó G.-

FIG. NO. 2

El tercer caso lo constituye la mezcla de dos hemoglobinas heterocigóticas; en ésta situación puede ocurrir que los alelomorfos de la hemoglobina normal sean reemplazados por dos genes distintos, cada uno de los cuales determina tipo diferente de hemoglobina. (Figura No. 3).



$\text{D} + \text{D} = \text{Gen para 2 diferentes Hb.}$

puede ser Hgb S, C, D o G.

FIG. NO. 3

El concepto de dominante o recesivo parece que puede ser aplicado en ciertos casos como factor inherente a la herencia de las hemoglobinas; sin embargo se ha encontrado que casi siempre hay una marcada diferencia en la aparición genética de los casos individuales del fenotipo y así vemos como la hemoglobina "A" que se considera dominante cuando se encuentra combinada con el gen de la hemoglobina "C" ó "S", tanto la primera como las dos últimas son igualmente expresivas, aunque con ligera predominancia de la hemoglobina A.

El problema genético se ha complicado aun más con las nuevas teorías que tratan de explicar estos hechos y especialmente la hipótesis de Singer quién sostiene que el gen de la hemoglobina "F", no es un alelo morfo de la hemoglobina "A" sino, que representa un determinante cuya supresión es fisiológica y casi siempre completa ante la presencia de hemoglobina normal "A". Esta teoría explica entonces el porque la hemo-

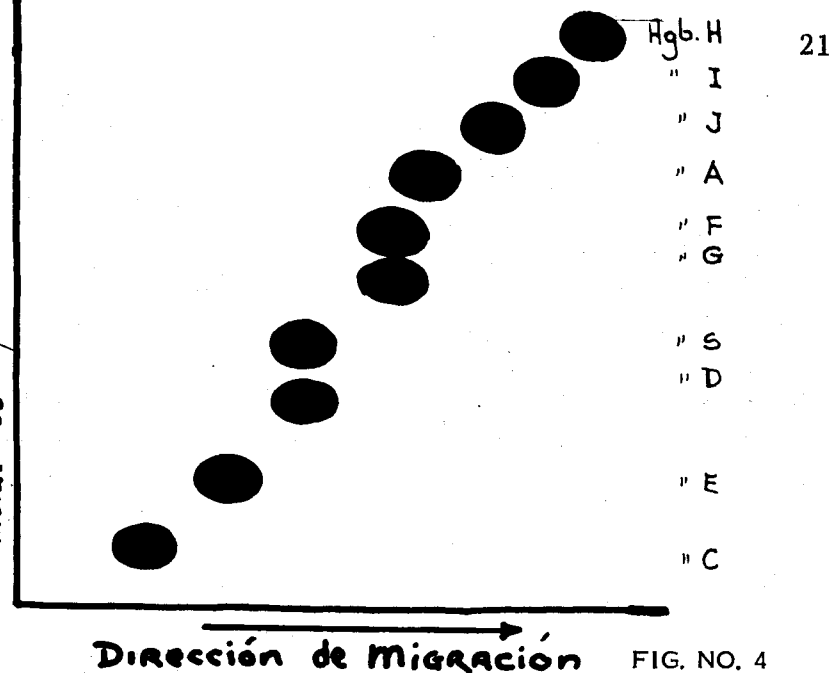
globina Fetal desaparece paulatinamente de la sangre del fenotipo al llegar a los dos años. La acción del gen de la hemoglobina patológica parece estar determinada hacia la supresión de la hemoglobina "F", aunque esta capacidad es mucho menor. - Así se encuentra que muchos homocigotos, con hemoglobinas, "C", "D" y "E" presentan en la sangre cantidades apreciables de hemoglobina "F", aun en el estado adulto y que puede llegar más allá del 8 %. La hemoglobina "S" es de las menos inhibidoras y generalmente se observan cantidades elevadas, arriba del 40 % de hemoglobina "F" en los estados homocigóticos. Ha sido también postulado que el gen de la Talasemia estimula la producción de hemoglobina "S", y en los estados homocigóticos de Talasemia la hemoglobina "F" puede constituir hasta el 90 % del pigmento hemoglobínico. En aquellos casos de dos genotipos heterocigotos tal como en la unión de talasemia con otro gen de hemoglobina patológica, el fenotipo presenta siempre concentraciones variables de hemoglobina "F", que varían del 10 % al 40 %.

En el caso encontrado por nosotros se trataba de un rasgo "AS", y por consiguiente era muy poco probable que encontráramos cantidades apreciables de hemoglobina "F". Esto fue confirmado cuando en la sangre de dicho paciente se investigó esta hemoglobina, con la técnica de la desnaturalización alcalina, la cual dió resultados inapreciables de ése pigmento. - Estábamos interesados especialmente en el caso encontrado por nosotros, en investigar las cantidades relativas de los componentes A y S; sin embargo debido a que la emigración de éstas dos hemoglobinas lo logramos en el aparato de electroforesis horizontal con bloque de almidón, dicha dosificación no pudo hacerse, ya que como dijimos antes, esta técnica no es adecuada para el análisis cuantitativo de las muestras.

La identificación de los diferentes tipos de hemoglobinas por medio de la electroforesis en papel, está basada en la migración en un campo eléctrico de las proteínas contenidas en la solución. El método original de electroforesis de "Zona

de Thiselius"; a pesar de ser un método exacto, está complicado en su ejecución por serias dificultades técnicas así como por las de conseguir uno de dichos aparatos. El descubrimiento de la electroforesis en papel que no tiene ninguna de estas limitaciones ha permitido la investigación de hemoglobinas anormales con gran facilidad, y en extensos sectores de la población. Es cierto que dicho método tiene varias limitaciones de las cuales queremos hacer notar dos, la primera consiste en que la conducta de las proteínas en el papel depende de un número de factores incalculables, especialmente, efectos de adsorción y electro-osmóticos, y no es generalmente posible obtener medidas absolutas de movilidad por este medio. El método es esencialmente comparativo, aunque se han hecho numerosos ensayos a fin de incorporar patrones de movilidad en el sistema. La segunda limitación está representada por que la migración de las proteínas varía de acuerdo al pH del Buffer empleado y con éste objeto es que se ha introducido el concepto de potencia iónica el cual en pocas palabras puede expresarse de que es igual a la mitad de la suma de todos los iones presentes de las concentraciones de cada ion, multiplicado por el cuadrado de su valencia. Como se ve este es un concepto físico-químico de suma importancia, y que en nuestros experimentos fué calculado con un valor de 0.06. De las anteriores limitaciones se desprende la necesidad de correr nuestros propios patrones de hemoglobinas, y para el efecto nos basamos en la migración observada con hemoglobinas conocidas y ya clasificadas como pertenecientes a individuos clínicamente reconocidos como enfermos comprobados. En el caso de la hemoglobina "AS" se corrió simultáneamente un patrón de hemoglobina clasificado previamente como "AS", (que nos fuera suministrado bondadosamente por el Dr. Max Bloch). Esto nos permitió la comprobación absoluta de que la migración de ambas muestras se hacía de idéntica manera y a igual distancia. Para mejor ilustración del método presentamos la figura número cuatro

Inicial de Aplicación de Hbs.



Dirección de Migración

FIG. NO. 4

En los años recientes se han publicado trabajos acerca de la protección posible que puede dar el rasgo de la siclemia en contra de la infección por *Plasmodium Falciparum* probablemente la primera de tales observaciones fué hecha por Bete, quien encontró menos incidencia de malaria en los negros con siclemia que en los carentes de ella. En un estudio más reciente, Allison postula que la infección aludida es menor en los niños que presentan la hemoglobina "S". A favor de esta teoría se han publicado los trabajos de Raper, en un estudio de 1,200 niños.** quien ha calculado que la ventaja selectiva de los heterocigotos para deformar los eritrocitos en relación con la malaria, podría ser la causa de que los homocigotos para hemoglobina "S" tengan tal preponderancia en los negros africanos. Otros investigadores tales como Moor, Foy y Archibald, trabajando en la India y en Africa no han encontrado ninguna relación entre Siclemia e inmunidad para la Malaria. -

** en la ciudad de Lehmann.

Siendo la población de Amatitlán, una zona endémica para la Malaria, en la que ha existido una prevalencia marcada de infecciones con *Plasmodium Falciparum*, pensamos que la incidencia de la hemoglobina "S", de ser cierta la teoría de Allison, debería tener un índice relativo muy elevado y fuera de cualquier consideración de mezclas raciales. El estudio de las muestras provenientes de la población de Amatitlán solo reveló un caso, lo que está en desacuerdo con los datos observados en el África, si consideramos que la Malaria puede haber destruido la cultura Maya de Guatemala. Y de acuerdo con esa teoría se puede pensar de que ya era tiempo para que el proceso de mutación inmunológico se hubiera llevado a cabo. Los hallazgos anteriores no están de acuerdo con lo postulado anteriormente.

Para terminar queremos hacer constar que consideramos este trabajo como preliminar y que el número de muestras examinadas no tiene más que un valor estadístico relativo sin embargo consideramos que el presente estudio, introduce en nuestro medio un método de investigación que hasta la fecha no se había llevado a cabo, siendo un estímulo para investigaciones más extensas de la población guatemalteca que contribuirán no solo al mejor conocimiento de nuestra Patología sino también a la elaboración de un mapa genético y etnológico de Guatemala.

CONCLUSIONES

Del análisis por electroforesis en papel de 93 muestras de sangre de la población guatemalteca de las cuales correspondían 27 casos a indígenas puros y 66 casos, a ladinos, hemos sacado las siguientes conclusiones:

1o. - Introducimos un nuevo método en Guatemala para el análisis de las hemoglobinas: electroforesis en papel con dos tipos de cámaras: Vertical y Horizontal, y además electroforesis horizontal con bloque de almidón.

2o. - Nuestra experiencia nos indica que es más satisfactoria, la cámara horizontal con bloque de almidón, ya que facilita la diferenciación cualitativa de las hemoglobinas debido a una segmentación más amplia de esas diferentes proteínas.

3o. - Se recomienda que para la identificación electrolítica de las hemoglobinas se corra simultáneamente con la muestra un patrón de hemoglobina conocido.

4o. - Creemos que para la valoración cuantitativa de las hemoglobinas, el método anterior no es satisfactorio y es preferible la electroforesis en papel con cámara horizontal.

5o. - En el grupo de indígenas puros (27 casos) se encontró hemoglobina tipo "A" exclusivamente.

6o. - En las muestras examinadas se encontró que la hemoglobina "A" predomina en el núcleo de población examinada.

7o. - Se encontró un caso de hemoglobina "AS" en la población ladina examinada en Amatitlán.

8o. - Este hallazgo confirma las consideraciones históricas y antropológicas ya conocidas.

9o. - En el presente estudio no encontramos ninguna evidencia, que permita comprobar el concepto de que la hemoglobina "S" esté relacionada con un proceso inmunológico de defensa contra la Malaria.

Vo Bo

Dr. Carlos Vizcaíno Gámez

Imprímase

J. Ernesto Alarcón
Decano

RECONOCIMIENTO

A LOS ATENTOS COLABORADORES:

Dr. Carlos Vizcaíno Gámez

Dr. Guillermo Andrade

Dr. Hugo Gándara

Dr. Carlos Tejada Valenzuela

Dr. José Méndez de la Vega

Dr. Jorge Luis Arriola

Dr. Carlos Martínez Durán

Profesor: Joaquín Pardo

BIBLIOGRAFIA:

- WHETTEN, NATHAN L. Patrones de Población. Integración Social en Guatemala. Guatemala C.A. 1956 p. 54.
- Dirección General de Estadística - Sexto Censo General de Población. Guatemala, C.A. República de Guatemala, Oficina Permanente del Censo, 18 de Abril de 1950.
- GOUBAUD CARRERA, ANTONIO. "Del Conocimiento del Indio Guatemalteco", Revista de Guatemala, Guatemala, C.A. Vol. I, 1945, ps. 86-104.
- Ministerio de Educación Pública, Instituto Indigenista Nacional, Nos. 1-8, Guatemala, C. A., 1946-1949.
- GAGE, THOMAS. The English - American, his Travel by Sea and Land; or a New Survey of the West-Indies, Libro III, cap. 1, p. 266.
- THERMER, F. Etnología y Etnografía de Guatemala; Seminario de Integración Social Guatemalteco. Publicación No. 5, XV, 1957.
- BLOCH, MAX, Hemoglobinopatías en el Salvador. Publicaciones del VII Congreso C. A. de Medicina, Managua 1957.
- REMESAL, FRAY ANTONIO. Capítulo LXVIII. "2a. Edic. Siglo XVII.
- XIMENEZ, Libro II Capítulo LXVIII. Pag. 208, 1632.
- MOLINA, FRAY ANTONIO. Archivos Nac. Siglo XVII (1715)
- 10) Statement Concerning a System of Nomenclature for the Varieties of Human Hemoglobin. Blood No. 8; 386 of 1953.

- (11) HORLEIM, H., y WEBER, G: Sobre las Formas Crónicas Familiares de Metahemoglobinemia y de sus Modificaciones. Wchnschr 73: 476, 1948.
- (12) ALLISON, A. C. Notation for Hemoglobins Types and Genes Controlling their Sintesis Journal of Science 122: 640, 1955.
- (13) CHERNOFF, A.I. Minnich, V. and Chongchareonsuk, S. Hemoglobin E., A Hereditary Abnormality of Human Hemoglobin, Science 120: pp. 605 (1954).
- (14) EDINGTON, G. M. AND LEHMANN, H. Hemoglobin, C. A. New Hemoglobin Found in a West African Lancet, 207 p. 173, a 174. (1955).
- (15) PAGE, E. G. RUK NAGEL, D. L., AND JENSEN, W. N., Clinical and Genetic Studies of New Inherited Abnormality of Hemoglobin Characterized by Rapid Electrophoretic Mobility, Clin. Research Proc. 3 pp. 67-68, 1955.
- BRIGAS A. KOLER, R.D., AND OSGOOD, E.E. New Hemoglobins Possessing a Higher Electrophoretic Mobility than Normal Adult Hemoglobin, Science 121:372 (1955).
- ITANO, H.A. Clinical States Associated with Alterations of the Hemoglobin Molecule, A.M.A. Arch. Internal Med. 96:287-297 (1955).
- PAULING, L. ITANO, H.A. SINGER, S.J., AND WELLS, L.C. Sickle Cell Anemia, a Molecular Disease. Science 1949, 110:543.
- ITANO, H.A. Human Hemoglobin, Science 1953, 117,

- (20) SPAET, T.H. Identification of Abnormal Hemoglobins by Means of Paper Electrophoresis. J. Lab. & Clin. Med. 1953, 41, 161.
- (21) SPINCO MODEL, R.B. Paper Electrophoresis System Instructions. Manual, Page 28-1959.
- (22) VILTER, R.W. AND MUELLER, J.F., El Crecimiento y la Maduración del Eritrocito in Bean, W.B. Editor "Monographs" of Medicine". Serie 1, p. 519-581. The Williams & Wilkins Co. Baltimore, 1952.
- (23) SINGER, K. AND CHERNOFF, A.J., AND SINGER L., Studies on abnormal Hemoglobins, Their Demonstration in Sick Cell Anemia and Other Hematologic Disorders by Means of Alkalidematuration. Blood, 6 413-428 (1951).
- (24) SINGER K. AND CHERNOFF, A.I. Studies on Abnormal Hemoglobins; Inter-Relationship of Type S. (Sickle Cell) and Type F. (Alkali resistant) Hemoglobin in sickle Cell Anemia Blood, 7: 45-52 (1952).
- (25) PONDER. E. AND LEVINE, P.: Fetal and Adult Hemoglobins in Blood of Infants Affected With Hemolytic Disease of Newborn. Blood 4: 1264, 1949.
- (26) ITANO, H. A. Solubilities of Naturally Occurring Mixtures of Human Hemoglobin, Arch. Biochem, 47 pp. 148 a 159 (1953).
- (27) ITANO, H.A. Human Hemoglobin, Science, 117 pp. 89-94 (1953).
- (28) STOLL O; Etnografía de Guatemala. Publ. S.T.S.G. Libro 8 - 1956.

- (29) ALLISON, A.C; Protection Afforded by sickle cell trait against subtertian Malaria infection Brit. M.J; 1: 290, 1954. -
- (30) RAPER A.B.; Malaria and the sickling trait. Brit. M.J., 1: 1186; 1955.