

Estudio molecular de las hemofilias A y B en Cuba

Hernández-Pérez Y, López- Hechevarría K, Gómez-Martínez M, Reyes-Navarro L, Collazo-Mesa T

Centro Nacional de Genética Médica, La Habana, Cuba

Email: yhperez@cngen.sld.cu

RESUMEN

Las hemofilias A y B son los principales trastornos hemorrágicos hereditarios ligados al cromosoma X que se presentan debido a mutaciones en los genes del factor VIII (HA), localizado en Xq28 y factor IX (HB), localizado en Xq27, ocasionando una disminución o deficiencia funcional de estas proteínas en plasma. Estos genes se localizan en el cromosoma X afectando casi exclusivamente a varones y siendo las mujeres portadoras, con un riesgo del 50 % de heredarlo a sus hijos, siguiendo un patrón de herencia recesivo ligado al cromosoma X. La estrategia diagnóstica adecuada cuando no se conoce el defecto genético es el empleo de polimorfismos ligados al gen y su análisis nos permite conocer el alelo que se segrega con la enfermedad. El objetivo de nuestro trabajo es identificar desde el punto de vista molecular, familias informativas para los marcadores St14, HindIII, BclI y XbaI para el diagnóstico de Hemofilia A y los marcadores DdeI, HhaI, TaqI y Mnl I para el diagnóstico de Hemofilia B, así como gestantes portadoras de HA o HB y fetos varones afectados o no por esta enfermedad. La extracción de ADN se realizó por el método de precipitación salina. Hasta la fecha se ha realizado el estudio de un total de 132 familias con Hemofilia A, 84 resultaron informativas para los marcadores correspondientes, 48 no informativas; 37 diagnósticos prenatales, 17 son varones sanos y 5 enfermos, 12 hembras sanas y 3 portadoras. De la Hemofilia B se estudiaron 33 familias, 20 resultaron informativas para los marcadores correspondientes, 13 no informativas, se realizaron 6 diagnósticos prenatales, 3 son varones sanos, 2 enfermos y una hembra sana. Se logró realizar el diagnóstico molecular de todas las familias afectadas con esta enfermedad para así brindar asesoramiento genético a todas las familias informativas, para un futuro diagnóstico prenatal.

Palabras clave: hemofilias A y B, diagnóstico prenatal, factor VIII, factor IX, informatividad, marcadores.

INTRODUCCIÓN

Las hemofilias A y B son los principales trastornos hemorrágicos hereditarios ligados al cromosoma X que se presentan debido a mutaciones en los genes del factor VIII (HA), localizado en Xq28, que consta de 186 Kb, distribuidas en 26 exones y factor IX (HB), localizado en Xq27, es más pequeño y consta de 26 Kb, está compuesto por 8 exones. Estas mutaciones ocasionan una disminución o deficiencia funcional de estas proteínas en plasma.¹⁻² Estos genes se localizan en el cromosoma X afectando casi exclusivamente a varones y siendo las mujeres portadoras, con un riesgo del 50 % de heredarlo a sus hijos, siguiendo un patrón de herencia recesivo ligado al cromosoma X. Las manifestaciones clínicas típicas de hemofilia son: hemorragias o sangrados internos, principalmente en articulaciones (hemartrosis), que pueden ocurrir de forma espontánea o posterior a traumatismos. Estos pacientes se caracterizan clínicamente por una tendencia hemorrágica proporcional al grado de deficiencia del factor hemostático, aunque suele haber excepciones. El nivel funcional del factor deficiente permite clasificar la enfermedad en: grave (< 1 % de la actividad), moderada (entre 1-5 %) y leve (entre 5-40 %).³ La prevalencia mundial aproximadamente es de 1/10000 varones para la HA, siendo la forma más severa y 1/50000 para la HB.⁴

OBJETIVOS

Generales: Identificar desde el punto de vista molecular, familias informativas para los marcadores St14, HindIII, BclI y XbaI para el diagnóstico de HA y los marcadores DdeI, HhaI, TaqI y Mnl I para el diagnóstico de HB, y de esta forma confeccionar los haplotipos para un futuro diagnóstico prenatal.

Específicos: Realizar el diagnóstico de portadoras de HA o HB y posterior diagnóstico prenatal.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras de los pacientes estudiados provienen de los Institutos de Salud pertenecientes a la Red Nacional de Genética Médica. La extracción de ADN a partir de sangre o líquido amniótico se realizó por el método de precipitación salina (Salting out) seguidamente se amplificaron las regiones de interés del gen del factor VIII y IX de la coagulación para el estudio de los polimorfismos correspondientes mediante el método de reacción en cadena de la polimerasa (PCR). El producto amplificado es digerido con su correspondiente enzima de restricción para cada marcador y corrido en un gel de agarosa al 2 o 3 % según las tallas de los fragmentos esperados y visualizado en un transiluminador de luz ultravioleta.

RESULTADOS

Se estudiaron 132 familias con 4 marcadores: St14, BclI, HindIII y XbaI para la HA resultando el marcador St14 (multialélico) el más informativo (43 familias informativas) con 51,2 %, BclI (20 %), HindIII (23,8 %) y XbaI (5 %). Para la HB se estudiaron un total de 33 familias con 4 marcadores resultando Ddel el más informativo, 48,4 %, HhaI 30,3 %, TaqI 15,1 % y MnlI 6,06 % de informatividad similar a estudios realizados en otras poblaciones.⁵

Con respecto a los diagnósticos prenatales, para HA de un total de 37, resultaron 17 varones sanos, 5 varones enfermos, 12 hembras sanas y 3 portadoras. En el caso de la HB de un total de 6 diagnósticos prenatales resultaron 3 varones sanos, 2 enfermos y 1 hembra sana.

CONCLUSIONES

Se logró realizar el diagnóstico molecular de todas las familias afectadas con esta enfermedad para así brindar asesoramiento genético a las familias informativas, para un futuro diagnóstico prenatal.

En las familias en las que algún miembro se encuentre afectado es importante detectar las mujeres con riesgo de ser portadoras y realizar el asesoramiento genético. Lo ideal es realizar este asesoramiento antes de que cualquier mujer con riesgo de la familia se plantee tener descendencia.

RECOMENDACIONES

Introducir la técnica para el diagnóstico molecular directo mediante el análisis de la presencia de la inversión del intrón 22 del gen FVIII para los pacientes con HA y la búsqueda de otras mutaciones.

BIBLIOGRAFÍA

1. Hwang SH, Kim HJ and Kim HS. Profiling of mutations in the F8 and F9, causative genes of hemophilia A and hemophilia B. In: Batorova A, ed. Hemophilia Intechopen. com. 2012. p1-14.
2. Jayandharan GR, Srivastava A. Hemophilia: Disease, Diagnosis and Treatment J Genet Syndr Gene Ther 2011; S1:005.doi:10.4172/2157-7412.S1-005
3. García-Chávez J, Majluf-Cruz A. Hemofilia. Gac Méd México. 2013; 149: 308-21.
4. Castillo González D. Hemofilia II. Aspectos moleculares y de genética poblacional. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter. 2012 ; 28(2): 111-9
5. Mukherjee S, Saha A, Kumar PS, Chandakb GR, Majumderc PP, Ray K. Remarkable variation in the informativeness of RFLP markers linked to hemophilia B locus in Indian population groups: Implication in the strategy for carrier detection. Disease Markers. 2006; 22(5-6): 327–34.

