

Herencia y anemia falciforme



Guía docente

**Estos materiales didácticos son para uso docente y de investigación.
Queda prohibida su comercialización o modificación.**

1. Caso clínico: ¿eres asesor/a genético/a!

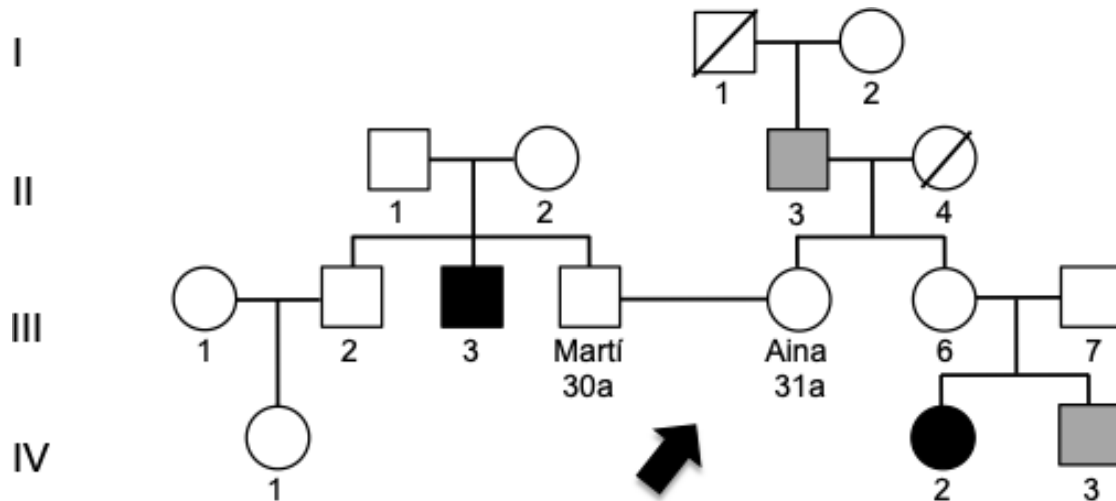
El primero que se hará es presentar el caso clínico de Aina y Martí, que nos acompañará a lo largo de toda la actividad. Repartid el documento titulado **“Teoría_Part1_AnemiaDaltonisme.pdf”**. Un voluntario puede leer el caso clínico en voz alta, y a continuación se responden tres preguntas individualmente y/o en grupo.

Imagina que eres asesor/a genético/a del Servicio de Genética del Hospital Vall de Hebron y vienen a la consulta Aina y Martí, una pareja de 31 y 30 años, respectivamente. El motivo por el que vienen a la consulta es que se están planteando tener hijos, pero están preocupados por sus antecedentes familiares. Por parte de Martí, te explican que tiene 2 hermanos, uno de los cuales sufre **anemia falciforme**. El otro hermano tiene pareja y una hija sana. Sus padres también están aparentemente sanos. Por parte de Aina, te dicen que su padre tiene daltonismo y que desgraciadamente su madre murió de un accidente de coche hará unos años. La abuela paterna todavía está viva, y está aparentemente sana. Además, Aina tiene una hermana que ha tenido 2 hijos, la hija pequeña afectada de anemia falciforme y el hijo mayor con **daltonismo**. Por tanto, tanto el hermano de Martí como la sobrina de Aina sufren anemia falciforme, mientras que el padre y el sobrino de Aina tienen daltonismo.

Responde a las tres preguntas siguientes primero individualmente, y después en grupo.

<p>¿Han hecho bien en ir a un Servicio de Genética? ¿Por qué?</p> <p><i>Sí que han hecho bien en ir a un Servicio de Genética, porque podrán evaluar el caso concreto de su familia, así como explicarles el riesgo de recurrencia de estas dos enfermedades (daltonismo y anemia falciforme) y las diversas opciones disponibles.</i></p>
<p>¿Cómo sabemos que se trata de una enfermedad hereditaria?</p> <p><i>Porque se puede observar que hay varios miembros de la familia afectados por estas enfermedades. Aun así, se tendrían que llevar a cabo pruebas genéticas para comprobar que se trata de una enfermedad hereditaria.</i></p>
<p>¿Cuál es el papel de un/a asesor/a genético/a?</p> <p><i>Un/a asesor/a genético/a se encarga de dar información sobre la enfermedad, las pruebas genéticas y las opciones disponibles, recoge la historia médica y familiar; calcula el riesgo de recurrencia y/u ocurrencia; ayuda a tomar decisiones teniendo en cuenta el riesgo, las opciones disponibles y los principios éticos y/o religiosos; comunica los resultados de pruebas genéticas, en caso de que se hayan realizado; y finalmente, es un apoyo psicológico y emocional para la familia durante todo el proceso.</i></p>

A continuació, se profunditzarà en la construcció de un pedigrí. Se explicarà la nomenclatura que se utilitza para crear estos arbres genealògics y se deixarà un temps para que construyan ellos mismos el arbre de la familia.



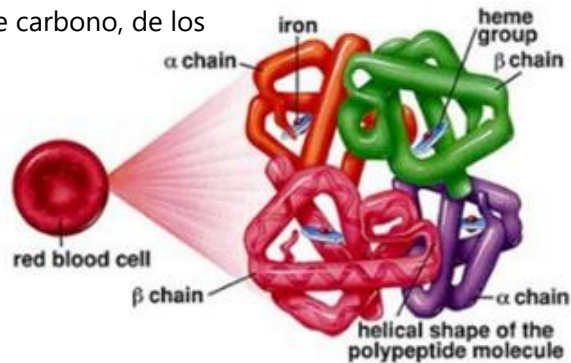
2. ¿Cómo podemos saber el tipo de herencia?

En esta sección de la actividad se repartirán 4 casos clínicos ("Teoria_Part2_CasosClínicos.pdf"), uno por grupo y se dejará un rato para su resolución. Finalmente, una persona de cada grupo explicará los resultados en voz alta, y cada grupo tendrá que completar el recuadro final mostrado a continuación:

	Enfermedad	Tipo de herencia	Cálculo de probabilidad que se ha planteado
Caso 1	Cáncer de mama	Autosómica dominante	Probabilidad de que Angelina Jolie hubiera tenido 2 hermanos/as más y los dos hubieran heredado la mutación <i>BRCA1</i> : $\frac{1}{2} \cdot \frac{1}{2} = \frac{1}{4}$
Caso 2	Enfermedad de Günther	Autosómica recesiva	Probabilidad de que los individuos II.1 e II.2 tengan dos descendentes más, ambos afectados por enfermedad de Günther: $\frac{1}{2} \cdot \frac{1}{2} = \frac{1}{4}$
Caso 3	Acondroplasia	Autosómica dominante	Probabilidad de que en Tyrion Lannister tenga dos descendentes afectados con una pareja de estatura normal: $\frac{1}{2} \cdot \frac{1}{2} = \frac{1}{4}$
Caso 4	Adrenoleucodistrofia	Ligada al X recesiva	Probabilidad de que en Lorenzo hubiera tenido un hermano afecto: $\frac{1}{4}$ (si ya sabemos que es niño se podría decir $\frac{1}{2}$) Probabilidad de que en Lorenzo hubiera tenido una hermana afectada: 0

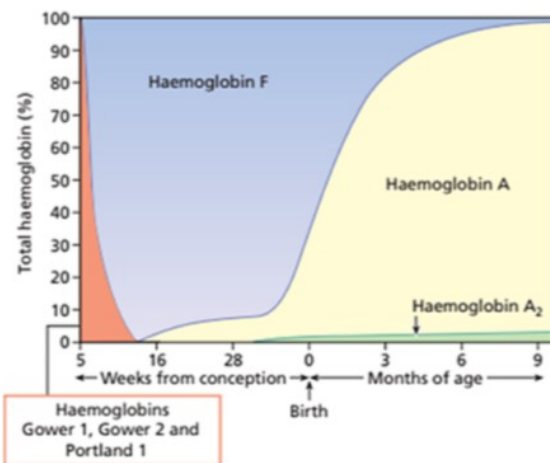
3. Hemoglobinopatías y anemia falciforme

En nuestra sangre, la proteína encargada de transportar el oxígeno desde los órganos respiratorio hasta los tejidos, y el dióxido de carbono, de los tejidos a los pulmones, es la **hemoglobina (Hb)**, que se encuentra dentro de los eritrocitos o glóbulos rojos. Su estructura consiste en cuatro cadenas polipeptídicas (globinas) donde se une un grupo hemo con un átomo de hierro que tiene capacidad de unión a una molécula de oxígeno.



Fuente: Hemoglobin Molecule. Structure and function of hemoglobin (<https://es.slideshare.net/asifzeb2/structure-and-function-of-hemoglobin/9>)

La combinación de estas cuatro subunidades permite la formación de diferentes tipos de Hb:



Fuente:

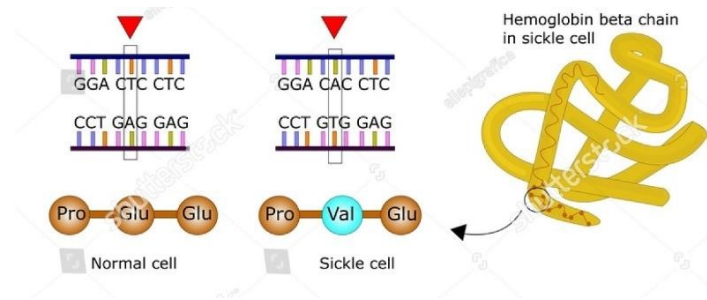
<https://www.seqc.es/download/tema/13/4413/803351306/2167177/cms/tema-5-diagnostico-diferencial-de-las-hemoglobinopatias.pdf/>

- Hemoglobina fetal (HbF): 2 cadenas α y 2 cadenas γ . Mayoritaria durante la etapa de gestación y a partir de los 6 meses se reduce a solo a <1%.
- Hemoglobina normal (HbA): 2 cadenas α y 2 cadenas β . Mayoritaria a partir de los 6 meses con unos valores de referencia alrededor del 85-98%.
- Hemoglobina A₂ (HbA₂): 2 cadenas α y 2 cadenas δ . Se sintetiza en pocas cantidades desde el nacimiento y sigue siendo minoritaria (2,5-3,5%) el resto de la vida.

Las **hemoglobinopatías** son un grupo de enfermedades genéticas de herencia autosómica recesiva que afectan a las cadenas de globina de la molécula de Hb. Son las enfermedades monogénicas más frecuentes y aproximadamente el 7% de la población mundial es portadora de mutaciones genéticas causantes de hemoglobinopatías. Se estima que cada año nacen más de 500.000 neonatos afectados de hemoglobinopatías graves. Se caracterizan en dos grandes grupos: las talasemias y las hemoglobinas variantes o estructurales.

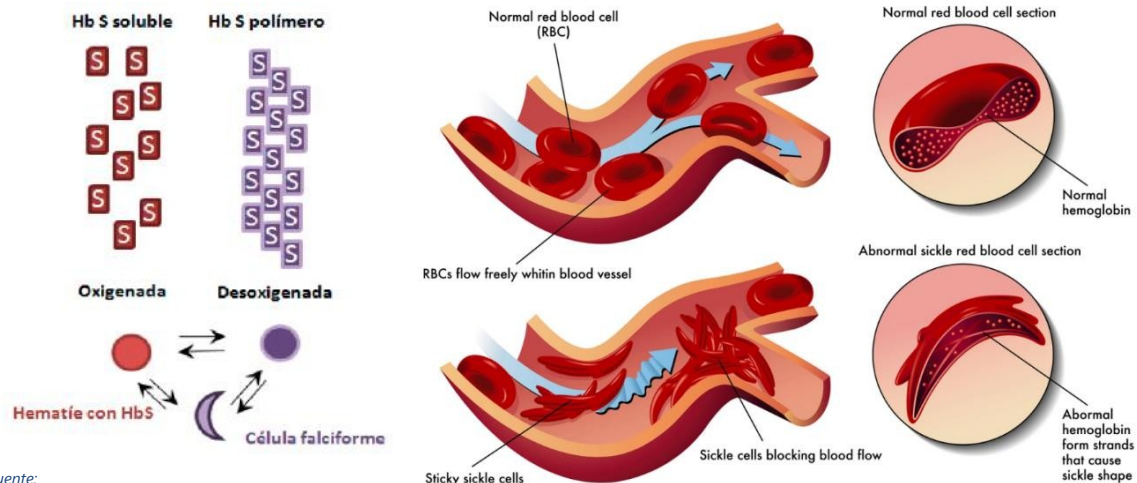
Las **talasemias** son causadas por mutaciones genéticas que afectan a los genes de las cadenas de globina produciendo una disminución o ausencia de la síntesis de una o más cadenas de globina (alteración cuantitativa). Esto provoca que se reduzca la formación de Hb haciendo que los glóbulos rojos sean de menor tamaño y con menor contenido de Hb. Las talasemias más comunes son la α o β -talasemia, en las que la mutación genética afecta al gen de la α o β -globina, respectivamente.

Se han descrito más de 1.200 variantes estructurales de la Hb, pero la hemoglobinopatía estructural más frecuente es la causada por la **hemoglobina S (HbS)**, que tiene una mayor incidencia en África, Oriente Medio, India y la cuenca del Mediterráneo. Resultado de una mutación en el gen de la β- globina (HBB), que consiste en un cambio de un solo nucleótido (A en vez de T) que comporta un cambio de aminoácido en la posición 6, de un ácido glutámico (GAG) a una valina (GTG) (**p.Glu6Val**).



Fuente: <https://www.archivesofmedicine.com/medicine/sickle-cell-anaemia-a-synopsis-of-the-inherited-ailment.php?aid=22306>

El cambio de aminoácido altera las características físico-químicas de la HbS, de forma que en situaciones de oxigenación la HbS es igual de soluble que la HbA, pero en ausencia de oxígeno la solubilidad de HbS disminuye haciendo que precipite en forma de polímeros. Estos se acumulan en el glóbulo rojo distorsionando su aspecto normal (bicóncavo) a una forma de medialuna o falciforme. Ciclos repetidos de oxigenación y desoxigenación causan un daño irreversible en la forma de la célula. Además, se reduce su vida mediana de 90-120 días, hasta solo 10-20 días.



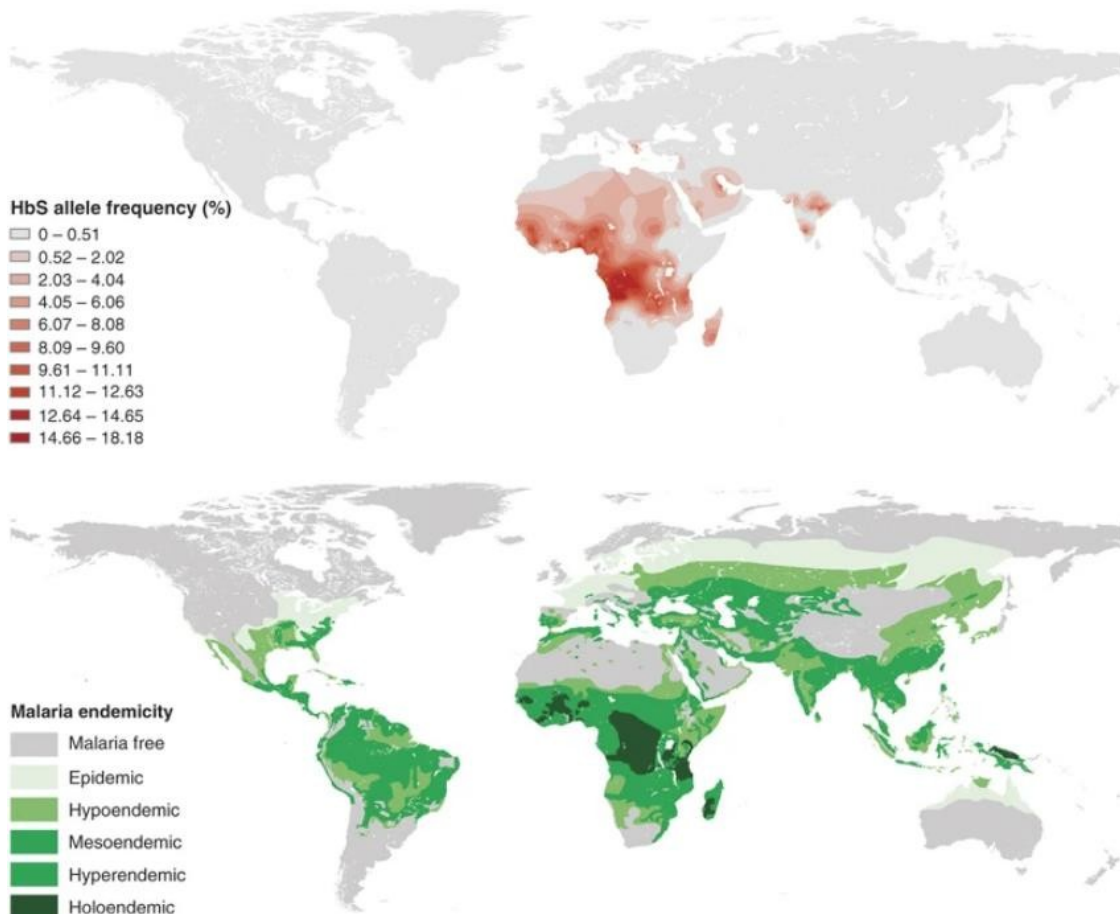
Fuente: <https://www.seq.es/download/tema/13/4413/803351306/2167177/cms/tema-5-diagnostico-diferencial-de-las-hemoglobinopatias.pdf>

Fuente: Diana grib (Own work) [CC BY-SA 4.0 (<http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>)], via Wikimedia Commons

Las manifestaciones clínicas por la presencia de HbS se dan con el estado homocigoto (**HbSS**) causando la **anemia falciforme**. Así pues se trata de una enfermedad autosómica **recesiva** donde se necesitan ambas copias del gen con la mutación HBB: p.Glu6Val. Clínicamente, los pacientes empiezan a mostrar los síntomas durante el primer año de vida cuando disminuyen los niveles de HbF.

La anemia falciforme se caracteriza por acontecimientos vaso-oclusivos y anemia hemolítica crónica, que produce isquemia de los tejidos dando lugar a dolor agudo y crónico, así como también daño interno en los órganos. También puede generar sepsis, accidentes cerebrovasculares o hipertensión pulmonar.

Los individuos heterocigotos (**HbAS**) son portadores de una mutación en una de las dos copias del gen HBB y fenotípicamente presentan lo que se denomina **rasgo de células falciforme**. No presentan manifestaciones clínicas, pero el hecho de tener algunos glóbulos rojos con forma falciforme los protege de morir por malaria. Esto se atribuye probablemente al hecho de que tienen una vida media mucho más corta, de forma que el parásito causante de la malaria (*Plasmodium falciparum*) no puede completar su ciclo vital. Por este motivo, los heterocigotos por HbS son más frecuentes en África que en el resto del mundo, coincidiendo con el lugar donde hay más malaria.



Fuente: https://www.researchgate.net/figure/Global-distribution-of-the-sickle-cell-gene-Distribution-of-the-data-points-Red-dots_fig2_47661711

La única cura por la anemia falciforme es el trasplante de médula ósea o células madre. Aun así, actualmente los únicos tratamientos que existen son para ayudar a mejorar los síntomas, disminuir las complicaciones y prolongar la vida. De hecho, en la década de los 70 la esperanza de vida no superaba los 14 años, mientras que actualmente la mayoría de gente con anemia falciforme vive pasados los 40 años.

4. Bioética: acuerdo/desacuerdo

En esta parte final de la clase de teoría, se realizará una actividad de acuerdo/desacuerdo con temática de bioética. Hay dos grandes bloques temáticos: seguros privados de salud familiar y La decisión de Anne. Se trata de generar un debate ético con toda la clase. El profesor actuará de moderador.

A) Seguros privados de salud familiar

En EE. UU., algunas aseguradoras privadas de salud familiar, dada la alta frecuencia del alelo HbAS, a la población afroamericana se le pide una muestra de sangre para realizar supuestamente un análisis bioquímico, pero en realidad también extraen DNA (de los leucocitos) para detectar mutaciones en el gen HBB y excluir a las personas con el rasgo de células falciformes. Una situación parecida se podría dar en Cataluña con las talasemias, las cuales son muy frecuentes en el Mediterráneo.

- ¿Estás de acuerdo con que las aseguradoras discriminen por el genotipo? ¿Por qué?
- Las aseguradoras sanitarias no dejan de ser empresas que tienen que velar por su beneficio. Por tanto, no pueden acoger a todo el mundo. ¿Estás de acuerdo? ¿Por qué?
- Las aseguradoras sanitarias no tendrían que discriminar a nadie, pero dado que son empresas tendrían que poder cobrar cuotas diferentes dependiendo del genotipo de las personas. ¿Estás de acuerdo? ¿Por qué?

B) La decisión de Anne (My sister's keeper)

La familia Fitzgerald tiene una hija de dos años, Kate, a quien diagnostican leucemia promielocítica aguda. Como que ni ellos dos ni el hermano mayor son compatibles con Kate, para salvarle la vida deciden tener una hija genéticamente compatible, Anne.

- ¿Estáis de acuerdo en que una pareja engendre un descendiente compatible para salvar su hija de dos años? ¿Por qué?
- Tras nacer, Anne, se tendrá que someter a varias intervenciones para dar a su hermana sangre, órganos y tejidos compatibles. Años después, habrá salvado a su hermana a expensas de hospitalizaciones y medicaciones continuos. ¿Estáis de acuerdo con el que han hecho los padres? ¿Por qué?
- Cuando Kate tiene 15 años sufre una insuficiencia renal, que requerirá el trasplante de un riñón de Anne. Ante esta situación, Anne se da cuenta de que la calidad de su vida se puede ver afectada y decide demandar judicialmente a sus padres buscando la emancipación médica. ¿Estáis de acuerdo con la decisión de Anne? ¿Por qué?

5. Caso clínico: ¡eres asesor/a genético/a!

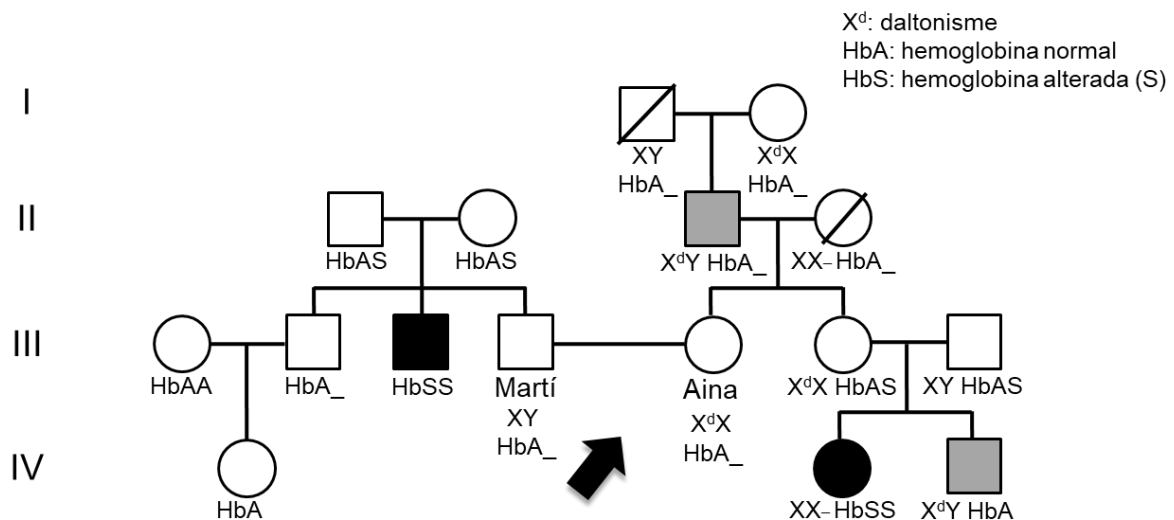
Volvamos al caso clínico que se ha explicado al comienzo de la clase teórica.

Imagina que eres asesor/a genético/a del Servicio de Genética del Hospital Vall de Hebron y vienen a la consulta en Martí (III.4) y Aina (III.5), una pareja de 30 y 31 años, respectivamente. El motivo por el que acuden a la consulta es que se están planteando tener hijos, pero están preocupados por sus antecedentes familiares. Te explican que tanto el hermano de Martí (III.3) como la sobrina de Aina (IV.2) sufren **anemia falciforme**. En cuanto al resto de la familia, todos están aparentemente sanos por parte de Martí, mientras que, por la rama familiar de Aina, su padre (II.3) y su sobrino (IV.3) sufren daltonismo. Desgraciadamente, la madre de Aina (I.4) murió de un accidente de coche dos años atrás. A continuación, se muestra el árbol genealógico que hemos podido dibujar gracias a la información que nos han facilitado. **¿Cuál crees que es la pregunta clave que te harán Aina y en Martí a tu consulta como asesor/a genético?**

Completa el recuadro con la que crees que puede ser la pregunta clave:

¿Qué probabilidad tenemos de tener un hijo afecto de anemia falciforme?

Los alumnos tendrán el árbol familiar en el guion de prácticas, pero sin los genotipos de cada miembro de la familia. **¿Cuál es el genotipo de la familia de Aina y en Martí?**



Cálculo de riesgo empírico: ¿cuál es la probabilidad de tener un hijo afecto por anemia falciforme?
 $2/3 \cdot 1/2 \cdot 1/4 = 1/12$

6. Objectivos

Los objetivos de esta práctica son los siguientes:

- a) Familiarizarse con la anemia falciforme y las hemoglobinopatías.
- b) Conocer el funcionamiento de la cromatografía.
- c) Relacionar los resultados de la cromatografía con el tipo de hemoglobina.
- d) Aprender el proceso que se podría llevar a cabo en una consulta de asesoramiento genético.



A continuación, los alumnos tendrán un resumen de la explicación hecha sobre las hemoglobinopatías y la anemia falciforme en el mismo guion, por si necesitan recordar alguna información.

7. Hipótesis y predicciones

Para poder solucionar el caso de Aina y Martí, los alumnos se deben plantear unas cuantas preguntas. Tendrán que responder de manera individual, y posteriormente, se pondrán en común con toda la clase.



¿Cómo podríamos identificar los genotipos relacionados con la anemia falciforme?

Escuchar las propuestas de los alumnos.

Posibles respuestas:

- *Analizar la sangre para observar eritrocitos en forma de hoz*
- *Analizar el DNA: ¿cómo? Secuenciación, buscar la mutación causante de la anemia falciforme.*
- *...*

¿Qué miembros de la familia se deberían analizar?

Para responder la pregunta de la práctica, solo habría que analizar a Aina y a Martí. Aun así, como la información genética no tiene una implicación individual, sino familiar, podría ser beneficioso analizar a otros miembros de la familia como los hermanos/as de la pareja. Además, tener esta información para un futuro también podrá ser útil.

8. Diseño del experimento

ATENCIÓN: El profesor o la profesora tiene que saber que en esta práctica **NO** estaremos separando HbA y HbS, sino hemoglobina y vitamina B12. Se trata de una simulación para que entiendan cómo se llevaría a cabo este proceso. La diferencia de tamaño entre estas dos proteínas es muy pequeña para poderlas separar con este kit de exclusión por tamaño, y en realidad se utiliza una cromatografía muy específica que separa por carga eléctrica. Esta información no se les debe facilitar hasta que hayan acabado la práctica.

Otras consideraciones:

- 15 minutos antes de empezar la práctica el/la profesor/a tiene que rehidratar la muestra (Protein Mixture) con 0,5 ml de agua destilada. Mezclar suavemente varias veces y mantener en frío (hielo o nevera) hasta el inicio del experimento.
- A los alumnos se les dirá que analizarán una muestra correspondiente a Aina y otra correspondiente a Martí, pero en realidad se trata de la misma muestra que viene con el kit (Protein mixture/sample), que se tiene que separar en dos tubos y rotular previamente al inicio de la práctica.

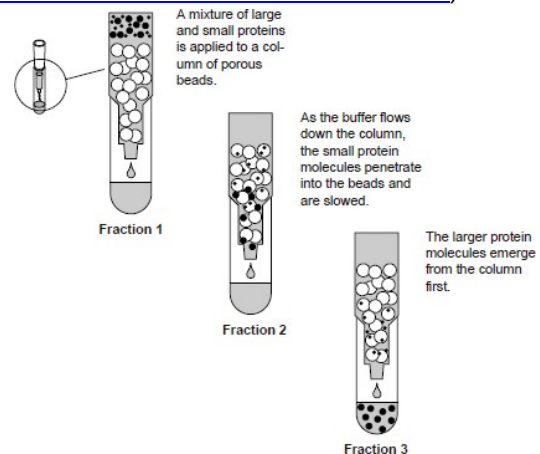
La mutación HBB: p.Glu6Val provoca un cambio en la solubilidad de la hemoglobina (Hb), pero también un cambio en el **tamaño**. La masa molar del ácido glutámico es 147,13 g/mol, mientras que la masa molar de la valina es 117,15 g/mol. Por tanto, la **HbA tendrá un peso superior a la HbS**. Además, como se trata de dos proteínas diferentes, tendrán un color ligeramente diferente. Mientras que la HbA tiene un color rojo oscuro, la HbS es de un tono más rosado.



Aprovechando la diferencia de tamaño entre ambas hemoglobinas, usaremos la técnica de la cromatografía para separarlas. Utilizaremos el **Kit de Cromatografía de exclusión por tamaño** de Bio-Rad (<https://www.bio-rad.com/es-es/product/size-exclusion-chromatography-kit?ID=7d8fb923-21a1-44ab-9077-a81c022cd6e8>).

A partir de la extracción de sangre de los individuos que queremos estudiar, y tras haber preparado estas muestras de manera adecuada y del todo segura para su manipulación en el laboratorio, realizaremos una cromatografía de exclusión por tamaño. Es una técnica que consiste en dos fases:

- Fase móvil: solvente con moléculas a separar
- Fase estacionaria: columna con una matriz porosa



Fuente: PowerPoint Presentation for Educational Use de la página del producto de Bio-Rad.

Los poros de la matriz actúan como trampas para las moléculas más pequeñas, que se quedan atrapadas en estos poros, mientras que las moléculas más grandes pasan de largo y son recogidas fuera de la columna. Al aplicar el buffer y recoger las diferentes fracciones, las moléculas más grandes saldrán primero de la columna, y más tarde las más pequeñas.

¿Qué resultados esperas obtener en función del tipo de hemoglobina y por qué?

Teniendo en cuenta que la hemoglobina A es mayor que la hemoglobina S, esperaríamos que la hemoglobina A salga en las primeras fracciones (color rojo oscuro), mientras que la hemoglobina S al ser más pequeña y quedarse atrapada en los poros de la matriz, salga en las fracciones más tardías (color rosado).

9. Lista de material necesario

El material necesario para llevar a cabo esta práctica se encuentra casi en su totalidad incluido en el kit de Cromatografía de exclusión por tamaño, a excepción de los elementos señalados con un asterisco. Este material es suficiente para 8 grupos de estudiantes.

- Muestra (Sample)
- Tubos de recogida (collection tubs)
- Columnas Poly-Prep
- Tapones por las columnas (column caps)
- Buffer por las columnas (column buffer)
- Pipeta (1 ml)
- Rotulador permanente*
- Soporte para los tubos*

Los estudiantes se dividirán en parejas. Cada grupo tiene que tener: 12 tubos de colección, 1 columna Poly-Prep, 1 tapón para la columna, 1 pipeta, 1 rotulador permanente y 1 soporte.

El vial con las muestras y la botella del buffer es común para todos los estudiantes, de forma que el profesor os lo repartirá. Habrá dos muestras correspondientes a Aina y Martí; cada grupo tiene que analizar una de las dos muestras. Se tienen que de forma que en el conjunto de la clase como mínimo se analice una muestra de cada persona, y, siempre que sea posible, que haya duplicados.

10. Protocolo

En esta parte se les dirá que imaginen que son técnicos del laboratorio de Genética y que los toca procesar las muestras. Una vez hayan preparado las muestras y se hayan asegurado de que tienen todo el material necesario, pueden leer las instrucciones del kit que están en inglés y que se pueden descargar en el siguiente enlace:

https://www.bio-rad.com/sites/default/files/webroot/web/pdf/lse/literature/Bulletin_3056.pdf

11. Interpretación y comunicación de los resultados

A continuación, haremos una actividad en grupos de 4 que hayáis analizado muestras diferentes. Compartid vuestros resultados con el otro grupo y completad el cuadro siguiente:

	Muestra de Aina	Muestra de Martí
Resultado	<i>Fracciones con colores diferentes (rojo marronosos y rosa), indicando que presentan los dos tipos de Hb. Pueden indicar los números exactos de fracciones con cada tipo de hemoglobina.</i>	
Genotipo deducido	<i>HbAS</i>	<i>HbAS</i>

Una vez finalizado el trabajo de laboratorio, imaginemos que estamos en la consulta de asesoramiento genético, acuden Aina y Martí para saber los resultados y aclarar algunas dudas. Por eso, os hacen las siguientes preguntas:

<p>¿Qué probabilidad tenemos de tener un hijo afecto de anemia falciforme? ¿Cómo habéis calculado este dato?</p> <p><i>Si sabemos, gracias al experimento llevado a cabo, que tanto Aina como Martí son portadores de anemia falciforme con genotipo HbAS, la probabilidad que tienen de tener un hijo afecto es $\frac{1}{4}$ porque el hijo tendrá que heredar ambos alelos mutados para sufrir la enfermedad.</i></p>
<p>¿Nos podéis explicar la técnica que habéis utilizado? ¿Es fiable?</p> <p><i>La técnica utilizada en esta práctica es una cromatografía de exclusión por tamaño, lo que quiere decir que separa las moléculas en función del tamaño. En este caso, hemos separado HbA y HbS porque la HbA (en realidad hemoglobina) al ser mayor saldrá en las primeras fracciones, mientras que la HbS (en realidad vitamina B12) quedará en las fracciones finales.</i></p>

Elaborad un guion de cómo sería la conversación en esta consulta y preparad una teatralización para representarla ante los compañeros.