

## ARTÍCULO DE REVISIÓN

Recibido para publicación: septiembre 10 de 2010 Aceptado  
en forma revisada: diciembre 02 de 2010

### **La bioinformática como herramienta de análisis en el síndrome de diamond blackfan**

#### **Bioinformatics as an analysis tool in diamond blackfan síndrome**

[Díaz Pérez, Anderson](#);<sup>1</sup> [Roldán Menco, Consuelo](#)<sup>2</sup>

### **RESUMEN**

La Bioinformática es la aplicación de los ordenadores y los métodos informáticos en el análisis de datos experimentales y en la simulación de los sistemas biológicos. La Anemia de Diamond–Blackfan es una enfermedad congénita rara; la cual está ligada a mutaciones en el gen RPS19. Este gen ribosomal codifica para proteínas que pueden estar interactuando con pseudogenes que se encuentran dispersos por todo el genoma. La Anemia de Diamond Blackfan, posee diferentes nombres alternativos. EL lugar geométrico del cromosoma donde se encuentra el gen es 19q13.2, 8p23.3-p22. El objetivo de la presente investigación es hacer un análisis bioinformático en la búsqueda identificación del gen RSP19 y las principales mutaciones y polimorfismos y realizar una búsqueda de los principales medios de diagnóstico y su correlación con la bioinformática para determinar un mejor seguimiento y pronóstico de la enfermedad. Concluimos que la bioinformática ayuda a la identificación de los genes implicados en diversas enfermedades en este caso en la Anemia de Diamond–Blackfan aumentado nuestro conocimiento en cuanto a la patología molecular, del desarrollo de enfermedades y de la función normal de los genes implicados y de sus productos como proteínas. Se realizó una caracterización del gen de la enfermedad en un análisis genético como herramienta de diagnóstico utilizando el OMIM (mendeliano en línea La herencia en base de datos del hombre (NCBI)). El trazado y la identificación del gen de la enfermedad RSP19 y consideraciones clínicas, diagnóstico mediante la identificación del gen RSP19 y determinación de sus estructuras mediante un análisis bioinformático.

<sup>1</sup> MSc. Ciencias Básicas Biomédicas. Docente Programa de Instrumentación Quirúrgica, Facultad Ciencias de la Salud, Integrante del Grupo Investigador ARGOS Quirúrgico. Corporación Universitaria Rafael Núñez. Universidad Popular del Cesar.

<sup>2</sup> Candidata a Magister en Bioquímica Clínica. Bacterióloga Especialista en Bioquímica Clínica. Docente e integrante del Grupo GIE del Programa de Enfermería, Facultad de Ciencias de la Salud, Corporación Universitaria Rafael Núñez – Cartagena, Colombia.

Correspondencia: [anderson.diaz@curnvirtual.edu.co](mailto:anderson.diaz@curnvirtual.edu.co)

**Palabras claves:** Anemia de Diamond–Blackfan, receptor de la cinasa de la tirosina,; desaminasa creciente de la adenosina.

## ABSTRACT

Bioinformatics is the application of computers and computational methods in the analysis of experimental data and simulation of biological systems. The Diamond-Blackfan anemia is a rare congenital disease, which is linked to mutations in the RPS19 gene. This gene encodes ribosomal proteins may be interacting with pseudogenes that are dispersed throughout the genome. Diamond Blackfan Anemia has different alternative names. The locus of the chromosome where the gene is 19q13.2, 8p23.3-p22. The objective of this research is to analyze the search Bioinformatic identification of RSP19 gene and major mutations and polymorphisms and search of the primary means of diagnosis and its correlation with bioinformatics to determine better monitoring and prognosis. We conclude that bioinformatics helps to identify the genes involved in various diseases in this case in the Diamond-Blackfan anemia increased our knowledge regarding the molecular pathology of disease development and normal function of the genes involved and products such as proteins. We performed a characterization of the disease gene in a genetic analysis as a diagnostic tool using the OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man database (NCBI)). The layout and identification of RSP19 disease gene and clinical considerations, diagnosis by identifying RSP19 gene and determination of their structures by bioinformatic analysis.

**Keywords:** Anemia of Diamond-Blackfan, receptor of the kinase from the tyrosine, for growing the adenosine.

## 1. INTRODUCCIÓN

Los ribosomas son organelas que ayudan a la catálisis en la síntesis de proteínas. Consiste en una proteína pequeña de 40S subunidades la cual hace parte de una proteína mayor de 60S subunidades. Estas subunidades son conformadas por cuatro diferentes ARN's cuya estructura conformacional traducen para más de 80 proteínas diferentes [1-2].

Este gen RPS19 codifica para una proteína ribosomal que en su componente posee una subunidad de 40S. Esta proteína está localizada a nivel del citoplasma y sus mutaciones están asociadas fuertemente con la Anemia de Diamond-Blackfan (DBA), la cual unas de sus principales características patognomónicas es la eritroblastopenia, la cual se caracteriza por disminución de los precursores eritroides en los diferentes pacientes. Este signo sugiere que este gen tiene una posible función extra-ribosomal en la diferenciación y proliferación eritropoyetica.

La sobreexpresión de este gen RPS19 también está asociado en los pacientes que sufren de anemia heterogénea, malformaciones en diferentes tejidos y órganos con predisposición al cáncer [3-4]. Estos genes ribosomales codifican para proteínas que pueden estar interactuando con pseudogenes ya que estos se encuentran dispersos por todo el genoma [1-2, 5-7].

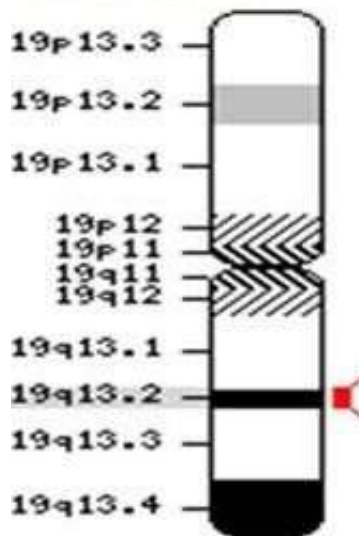
## 2. ANEMIA DE DIAMOND BLACKFAN (DBA)

La anemia del Diamante-Blackfan (DBA) es una anemia hipoplástica congénita rara que se presenta generalmente a temprana edad en los infantes. La enfermedad es caracterizada por una moderada anemia normocromica, a menudo macrocytica severa, con reticulocitopenia, y eritroblastopenia selectiva en la medula ósea.

Aunque la mayoría de los casos parecen ser esporádicos, algunos patrones demuestran que el 10% a 20% que es hereditario, infiriendo que posiblemente el DBA es autosoma dominante con un cuadro clínico marcado y heterogéneo y dentro de las familias afectadas la anemia puede ser suave o ausente en algunos individuos, con solamente indicaciones sutiles de la anormalidad eritroide tales como volumen corpuscular malo creciente (MCV) o actividad de la desaminasa de la adenosina del eritrocito (eADA) o ambas. Más del 40% de los pacientes tienen anormalidades congénitas, particularmente a nivel de los miembros superiores, craneofacial [8].

Recientemente se realizó un análisis del acoplamiento en 29 familias europeas el cual demostró que la DBA en 26 de familias dominantes y recesivas se basó en el cromosoma 19q. Ver figura 1.

Figura 1. Cromosoma 19



Fuente: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/mapview/map\\_search.cgi?taxid=9606&build=previous](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/mapview/map_search.cgi?taxid=9606&build=previous)

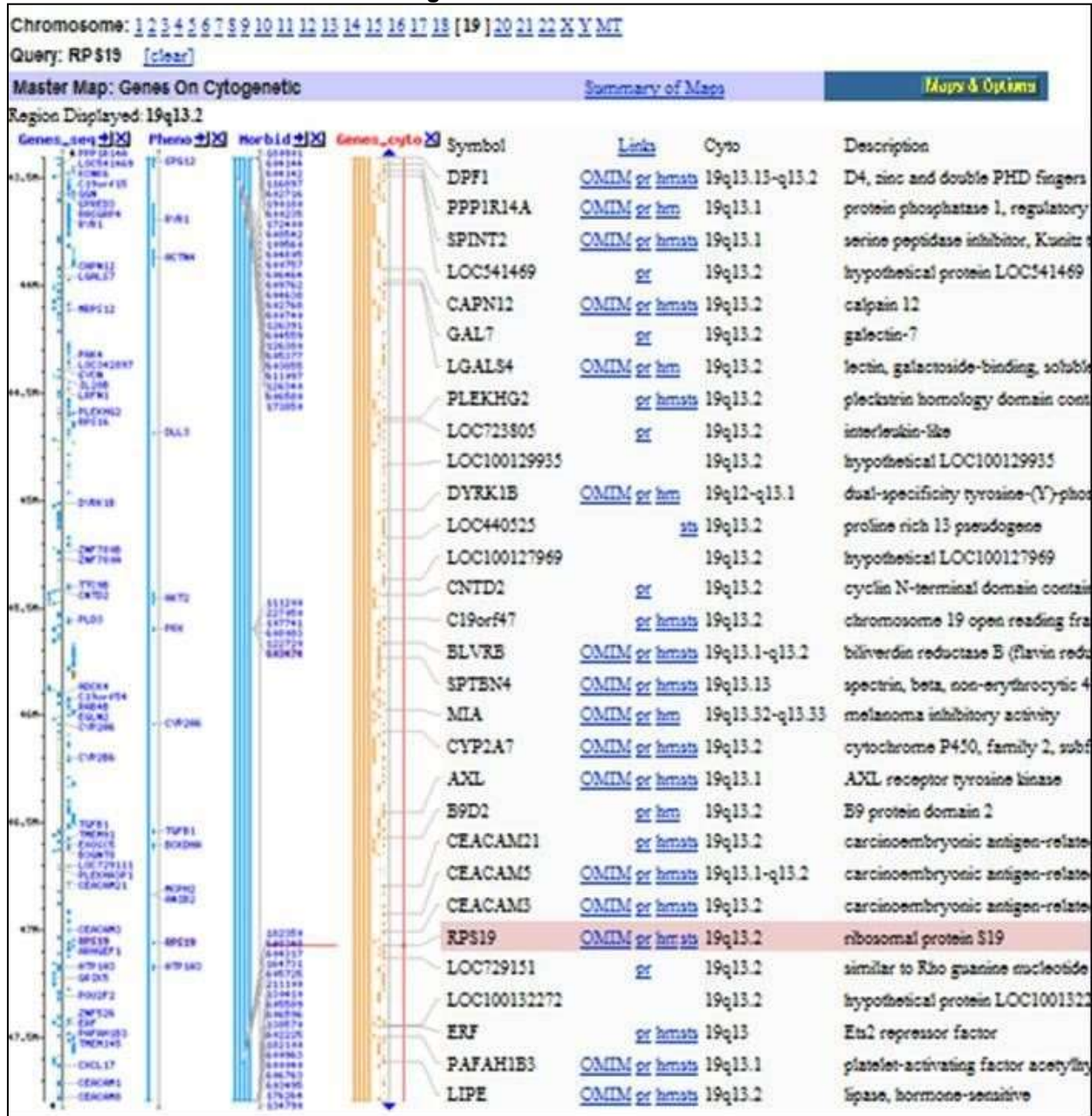
La Anemia De Diamond-Blackfan (DBA), posee diferentes nombres alternativos:

1. Síndrome De Blackfan-Diamond; BDS.
2. Anemia, Hipoplástico Congénito, De Blackfan y Del Diamante.
3. Anemia, Hipoplástico Eritroide Congénito.
4. Aplasia Del Glóbulo Rojo, Puro, Hereditario.
5. Anemia Arregenerativa, Congénito Crónico.
6. Eritrogenesis Imperfecta.
7. Síndrome II De Aase-Smith.

8. Síndrome De AASE.

El lugar genómico de los genes implicados en la DBA se encuentran en 19q13.2, 8p23.3-p22 [4].

Figura 2. Genoma Humano.



Fuente: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/mapview/map\\_search.cgi?taxid=9606&build=previous](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/mapview/map_search.cgi?taxid=9606&build=previous)

La población hasta ahora estudiada muestra que aproximadamente el 25% de los casos con anemia De Diamond Blackfan (DBA) son causados por una mutación en el gen que codifica para la proteína ribosomal S19 llamada común mente (RPS19; 603474), esta nomenclatura facilita su búsqueda y análisis en los sistemas Bioinformaticos en la red.

Cerca del 25% de los casos son heterocigotos para este gen con la mutación RPS19, donde aproximadamente el 2% de los casos son negativos a la mutación del gen RPS19, pero tienen una mutación en la proteína ribosomal RPS24 (602412) [4].

Los cerca de 25% de los casos con la DBA son heterocigóticos con una mutación en el gene RPS19. Unos de los tantos lugares geométricos para la anemia del DiamanteBlackfan se ha trazado también en el cromosoma 8p23-p22 (DBA2; 606129).

### **3. EPIDEMIOLOGÍA**

La anemia de Diamond-Blackfan es una aplasia eritroide congénita que se presenta generalmente en infancia. Aproximadamente de 30 a 40% de los pacientes tienen otras anomalías congénitas, particularmente del miembro superior y de las regiones craneofaciales, aunque la mayoría de casos del DBA es esporádica, aproximadamente 10 a 25% son familiares, con la mayoría de la herencia dominante de un autosoma de la demostración [9-11].

### **4. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS**

Diamond y otros (1961) observaron pulgares trifalengal en 1 de cada 30 pacientes con anemia hipoplástica eritroide congénita [12].

Altere (1978) preciso que los pulgares trifalengal ocurrieron en 6 de 133 casos de anemia hipoplástica congénita [13]. En todos, 45 de los 133 casos (el 34%) habían asociado anomalías de la mano con una cierta clase de anemia.

Cathie (1950) describió un aspecto facial similar en 4 niños afectados sin relación con eritrogenesis imperfecta, incluyendo narices rechazadas, los labios superiores gruesos, y separamiento extensamente de los ojos [14]. En uno, el defecto septal ventricular estaba presente. Altere (1978), Gorlin y otros (1990), y Hurst y otros (1991) consideraban el síndrome divulgado por Aase y Smith (1969) puede ser igual que el síndrome del Diamond-Blackfan. Altere (1978) y Gorlin y otros (1990) lo refirieron como síndrome II (Aase-Smith de Aase-Smith I) [13-17]. Willig y otros (1999) divulgó 42 casos con la DBA causado por la mutación en el gen RPS19 [18].

### **5. DETECCIÓN Y DIAGNÓSTICO DE LAS ANEMIAS POCO FRECUENTES**

Dentro de las anemias poco comunes, las que cursan con hemólisis son quizá las mejor conocidas porque, prácticamente siempre, plantean la necesidad de establecer el diagnóstico diferencial entre mecanismo adquirido y congénito. Aunque, al igual que en toda anemia, los aspectos clínicos tienen aquí un papel relevante, la imposibilidad, a veces, de demostrar la causa de la hemólisis constituye un problema clínico generalmente acuciante [19,20].

Junto a la anemia, su característica más destacada es la elevada concentración de reticulocitos, lo que permite diferenciarlas inmediatamente de las debidas a defectos en la eritropoyesis [19].

## 6. HERENCIA

Aproximadamente 10 del 25% de casos del DBA son familiares. Los casos familiares de la anemia hipoplástica eritroide congénita fueron divulgados por Burgert y otros (1954) y por Diamond y otros (1961). Wallman (1956) describió un padre y una hija con hipoplasia eritroide, pero las edades del inicio están entre 6 y 34 años, respectivamente, estos estaban más allá de los límites generalmente del síndrome del Diamante-Blackfan. Forare (1963) observó un hermano y a la hermana afectados [4, 18, 21-22].

Mutaciones del gen RPS19 se han identificado en solamente en el 25% de casos, sugiriendo un mayor grado de heterogeneidad genética que el esperado en el acoplamiento inicial, autores ya hablan de la existencia de un segundo gen para DBA presente en el cromosoma 8p el cual también condiciona para la heterogeneidad genética adicional [8].

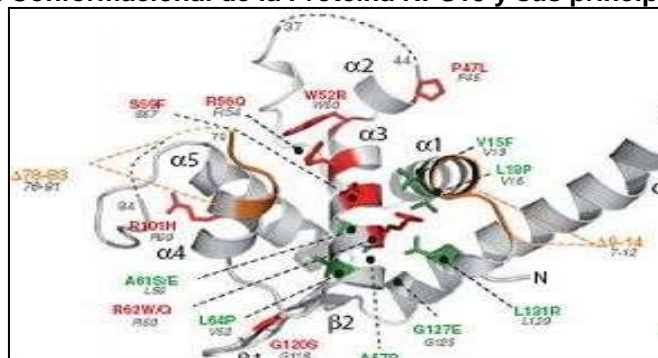
## 7. BASES MOLECULARES DE LA ANEMIA DE DIAMOND-BLACKFAN

La proteína RPS19 es un componente de la ribosomal 40S la cual pertenece a la familia proteínas ribosomales de las células eucariotas [1, 23-24].

La disrupción en sitios puntuales del gen RPS19 en células humanas afecta la maduración preribosomal ARN (pre-rRNA) produce un bloqueo en la producción de proteínas ribosomal. Sin embargo nuevos estudios de asociación relacionan otras dos proteínas ribosomales las cuales están codificadas en los genes RPS24 y RPS17 con la (DBA) en consecuencia se determina que es una consecuencia de desordenes o mutaciones ribosomales [18, 24-26].

Existen aproximadamente 60 diferentes mutaciones que pueden afectar el gen RPS19, donde incluyen deleciones, inserciones, codones de parada prematuros, y mutaciones silentes [6, 18, 24-26]. Ver figura 3.

**Figura. 3. Estructura Conformacional de la Proteína RPS19 y sus principales sitios de mutación**



## 8. ANALISIS BIOINFORMÁTICO DE LA ANEMIA DE DIAMOND-BLACKFAN

Las herramientas de la Bioinformática permiten hacer un análisis detallado de las características de cualquier proteína descubierta cristalografiada y reportada en las bases de datos de ADN, ARN, Proteínas, (Gen Bank) [4]. La Bioinformática está comenzando a ser considerada como disciplina científica, como se evidencia en el incremento de publicaciones y reuniones científicas en esta área del saber. La diferencia entre una disciplina científica y un campo de apoyo es que la primera implica una investigación basada en el planteamiento de hipótesis, mientras que el segundo sólo se encarga de apoyar esa investigación. Ver tabla 1.

**Tabla 1. Identificación y análisis de la proteína RPS 19 por bioinformática**

Identificación y Análisis de la proteína RPS 19 Por Bioinformatica.		
Entry name	B0ZBD0_HUMAN	
Accession number	B0ZBD0	
Integrated:	08-APR-2008, UniProtKB/TrEMBL.	
Sequence update:	08-APR-2010, sequence version 1	
Annotation update:	16-DEC-2009, entry version 8	
UniSave:	B0ZBD0	
UniRef100:	UniRef100_P39019	
UniParc:	UPI0000161C03	
Description and origin of the Protein		
Description	Submitted:	Full=40S
ribosomal protein S19 (Ribosomal		
protein S19, isoform CRA_a) (cDNA,		
FLJ92047, Homo sapiens ribosomal		
protein S19 (RPS19), mRNA)		
Gene name(s):	RPS19	
ORF Name(s):	hCG_1995572	
Organism source:	Homo sapiens (Human).	
Taxonomy	Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Mammalia; Eutheria; Euarchontoglires; Primates; Haplorrhini; Catarrhini; Hominidae; Homo.	
NCBI:	TaxID 9606	
References:	[1] Stockwell,T.B., Busam,D.A., Ferriera,S.M., Brownley,A.N., Strausberg,R.L., Kirkness,E.F., Rogers,Y.-H., Levy,S.,	
Submitted NOV-2007 to the EMBL GenBank DDBJ databases		
Position:	NUCLEOTIDE SEQUENCE.	
[2] Mural,R.J., Istrail,S., Sutton,G., Florea,L., Halpern,A.L., Mobarry,C.M., Lippert,R., Walenz,B., Shatkay,H., Dew,I., Miller,J.R., Flanigan,M.J., Edwards,N.J., Bolanos,R., Fasulo,D., Halldorsson,B.V., Hannenhalli,S., Turner,R., Yooseph,S., Lu,F., Nusskern,D.R., Shue,B.C., Zheng,X.H., Zhong,F., Delcher,A.L., Huson,D.H., Kravitz,S.A., Mouchard,L., Reinert,K., Remington,K.A., Clark,A.G., Waterman,M.S., Eichler,E.E., Adams,M.D., Hunkapiller,M.W., Myers,E.W., Venter,J.C.,		
Submitted JUL-2005 to the EMBL GenBank DDBJ databases		

Position:	NUCLEOTIDE SEQUENCE.
[3] Wakamatsu,A., Yamamoto,J., Kimura,K., Kaida,T., Tsuchiya,K., Iida,Y., Takayama,Y., Murakawa,K., Kanehori,K., Andoh,T., Kagawa,N., Sato,R., Kawamura,Y., Tanaka,S., Kisu,Y., Sugano,S., Goshima,N., Nomura,N., Isogai,T.,	
<b>NEDO functional analysis of protein and research application project.</b>	
Submitted JAN-2008 to the EMBL GenBank DDBJ databases	
Position:	NUCLEOTIDE SEQUENCE.
Copyrighted by the UniProt Consortium, see <a href="http://www.uniprot.org/terms">http://www.uniprot.org/terms</a> Distributed under the Creative Commons Attribution-NoDerivs License	
Database cross-references	
EMBL:	EU326300; ACA05898.1; -; Genomic_DNA. AK311786; BAG34729.1; -; mRNA.
RefSeq:	NP_001013.1; -.
PRIDE:	B0ZBD0; -.
Ensembl:	ENSG00000105372; Homo sapiens.
GeneID:	6223; -. KEGG hsa:6223; -.
NextBio: 24159; -. GO: 0005840; C:ribosome; IEA:InterPro.	
GO:0003735; F:structural constituent of ribosome; IEA:InterPro.	
GO:0006412; P:translation; IEA:InterPro.	
InterPro: PR001266; Ribosomal_S19e.	
PANTHER:	PTHR11710; Ribosomal_S19E; 1.
Pfam:	PF01090; Ribosomal_S19e; 1.
ProDom:	PD003854; Ribosomal_S19E; 1.
PROSITE:	PS00628; RIBOSOMAL_S19E; 1.
<b>Protein Existence</b>	
2: Evidence at transcript level.	
Keywords: Ribosomal protein;	
<b>Sequence information</b>	
Length: 145 aa, molecular weight: 16060 Da, CRC64 checksum: 181F2DB898E56E41	
Display Format FASTA GCG PIR Swiss-Prot Pretty >uniprot B0ZBD0 B0ZBD0_HUMAN 40S ribosomal protein S19 (Ribosomal protein S19, isoform CRA_a) (cDNA, FLJ92047, Homo sapiens ribosomal protein S19 (RPS19), mRNA);	
<b>MPGVTVKDVENQEFVRLAFAFLKKSGLKVPWVDTVKLAKHKELAPYDENWFYTRAASTARHLYLR GGAGVGSMTKIYGGRQRNGVMPHFVSRGSKSVARRVLQALEGLKMVEKDQDGGGRKLTPQGQRDLDR IAGQVAAANKKH</b>	

Fuente: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/EAW57074.1>

Se puede determinar la secuencia nucleotídica (ADN), ARNm y Proteica con sus diferentes estructuras conformacionales (estructura primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria) ya que se han cristalografiado por diferentes grupos de investigación. Ver figura 4 y 5.

**Figura 4. Búsqueda de Secuencia Proteica del Gen RPS19**

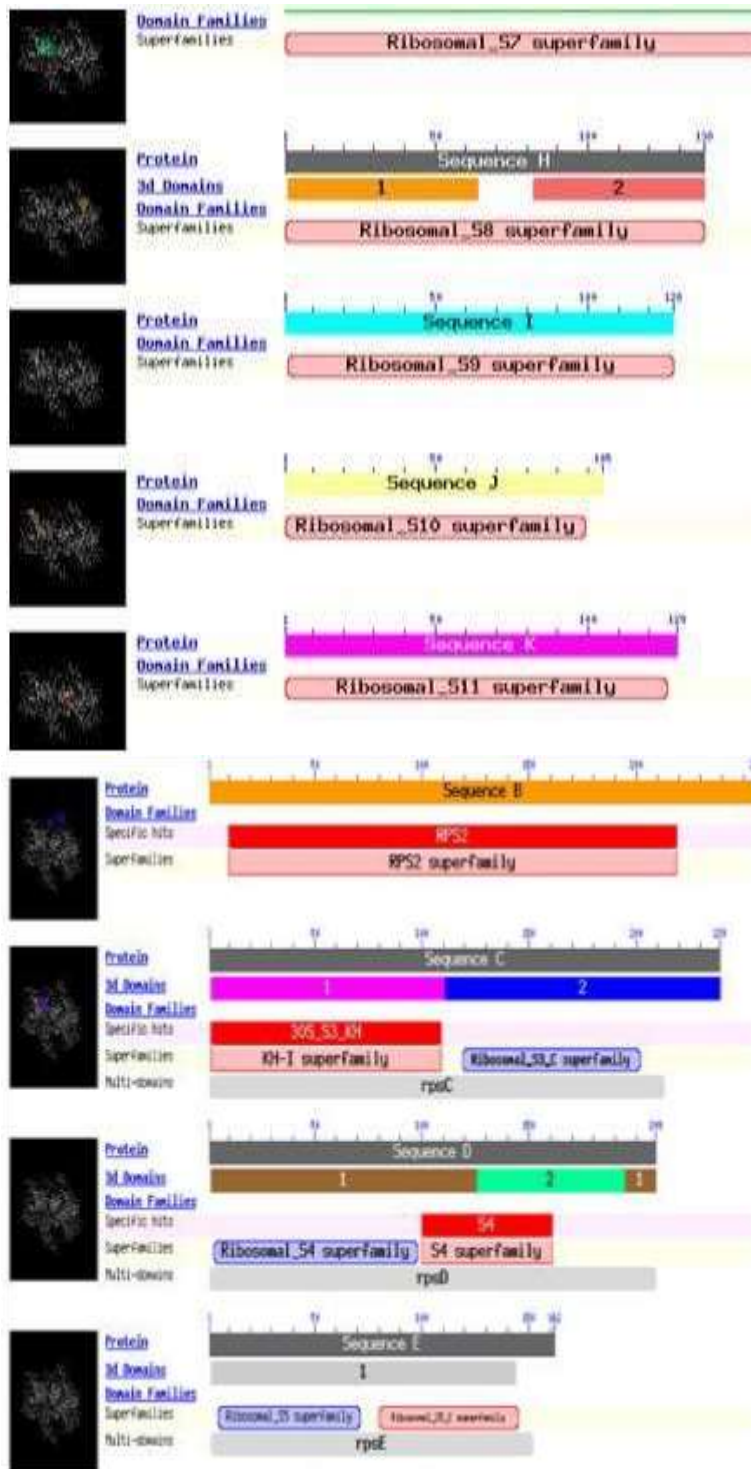


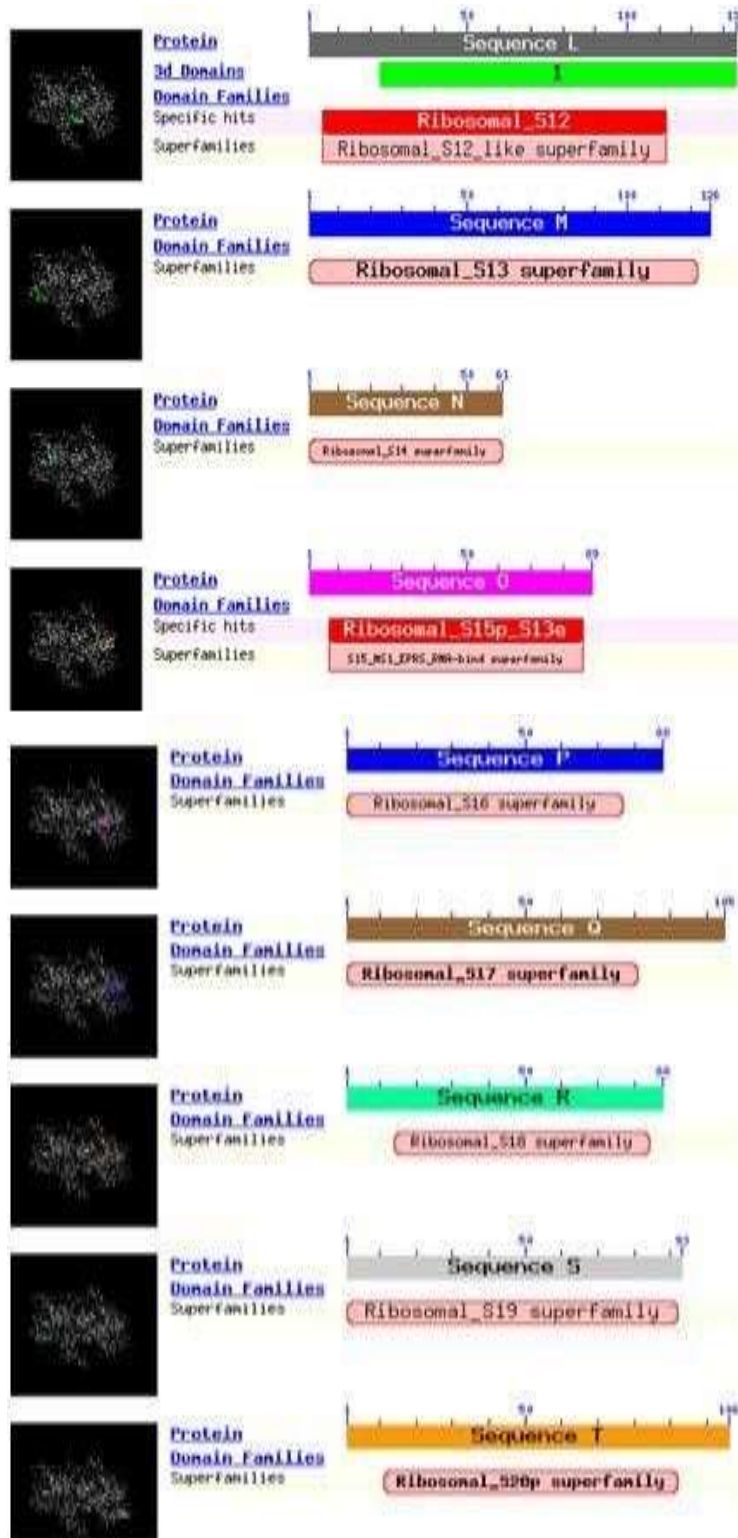
1: NP\_001013. Reports ribosomal protein. [gi4506695]

```
>gi(4506695)|ref(NP_001013.1)| ribosomal protein S19 [Homo sapiens]  
MPGVTVKDVNQEFVRLAAFLKKSGLKVPFWVDIVKLAHHELAFTYDENWFFYTRAASTARHLYLRGGA  
GVGSMYKIYGGRRQNGVMPSHFSRGSKSVARRVLQALEGLKMWKEDQGGHELTTPQGRDLDRIAGQVAA  
ANKKH
```

Fuente: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/4506695>

**Fig. 5. Diferentes componentes de la Proteína Ribosomal 60S.**





Fuente: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/mmdb/dmstr>

Además las herramientas permiten determinar los parámetros adecuados para hallar las secuencias y analizarlas de la manera más pertinente y precisa. Ver tablas 2 y 3.

**Tabla 2. Características generales del gen RPS19, sin base nucleotídica**

Location/Qualifiers	
source	1..11497
/organism="Homo sapiens"	
/mol_type="genomic DNA"	
/db_xref="taxon: <a href="#">9606</a> "	
/chromosome="19"	
/map="19q13.2"	
gene	1..11497
/gene="RPS19"	
/gene_synonym="DBA"	
/note="ribosomal protein S19"	
/db_xref="GeneID: <a href="#">6223</a> "	
/db_xref="HGNC: <a href="#">10402</a> "	
/db_xref="MIM: <a href="#">603474</a> "	
mRNA	join(1..372,858..928,1194..1294,9114..9297,9782..9836, 11432..11497)
/gene="RPS19"	
/gene_synonym="DBA"	
/product="ribosomal protein S19"	
/transcript_id=" <a href="#">NM_001022.3</a> "	
/db_xref="GI:48255921"	
/db_xref="GeneID: <a href="#">6223</a> "	
/db_xref="HGNC: <a href="#">10402</a> "	
/db_xref="MIM: <a href="#">603474</a> "	
exon	1..372
/gene="RPS19"	
/gene_synonym="DBA"	
/inference="alignment:Splice" /number=1	

**Tabla 3. Secuencia Nucleotídica precisa que codifica para el gen RPS19**

FEATURES	Location/Qualifiers
----------	---------------------

<pre> source      1..372 /organism="Homo sapiens" /mol_type="genomic DNA" /db_xref="taxon:9606" /chromosome="19" /map="19q13.2" gene       1..&gt;372 /gene="RPS19" /gene_synonym="DBA" /note="ribosomal protein S19" /db_xref="GeneID:6223" /db_xref="HGNC:10402" /db_xref="MIM:603474" </pre>
<pre> mRNA      1..372 /gene="RPS19" /gene_synonym="DBA" /product="ribosomal protein S19" /transcript_id="NM_001022.3" /db_xref="GI:48255921" /db_xref="GeneID:6223" /db_xref="HGNC:10402" /db_xref="MIM:603474" </pre> <p>EXON 1..372: Este es el numero de bases nucleotidicas que codifican para el Gen RPS19.</p> <pre> /gene="RPS19" /gene_synonym="DBA" /inference="alignment:Splice" /number=1 </pre>
<b>Secuencia Aminoacidica</b>
<pre> <b>1</b>GTACTTTCGCCATCATAGTATCTCCACCACTGTTCCCTCCAGCCACGAA CGACGCAAAC <b>61</b>GAAGCCAAGTTCCTCCAGCTCCGAACAGGAGCTCTCTATCCTCTCTCTATTACTCCGG <b>121</b>GAGAAGGAAACGCGGGAGGAAACCCAGGCCTCCACGCGCGACCCCTTGGCCCTCCCCTTT <b>181</b>ACCTCTCCACCCCTCACTAGCACCCCTCCCCTCTAGGCGGGGACGAACTTTCGCCCTGAG <b>241</b>AGAGGCGGAGCCTCAGCGTCTACCCTCGCTCTCGCGAGCTTTCGGA ACTCTCGCGAGACC <b>301</b>CTACGCCCGACTTGTGCGCCCGGAAACCCCGTCGTTCCCTTCCCCTGGCTGGCAGCGC <b>361</b>GGAGGCCGACG </pre>

Las búsquedas primarias deben de ir condicionadas a la búsqueda nucleotídica, al ARNm y luego a la secuencia aminoacídica, para determinar la proteína cristalografiada por medio de las diferentes bases bioinformaticas como:

- Prosite.
- NCBI.
- EBI.
- Swisprot

Estas bases y softwares permiten realizar un análisis más profundo acerca de las características hidrofóbicas, hidrofílicas, hélices alfa, beta, y demás características como fuerzas iónicas y no iónicas, Montecarlo, etc. Ver Figura 5.

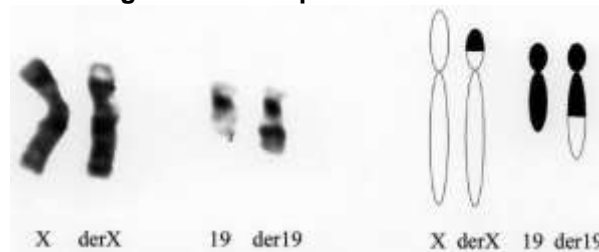
En base a la proteína mayor se comparan las demás proteínas ribosomales.

## 9. ANÁLISIS DEL LUGAR GEOMÉTRICO RPS19 DE LA ANEMIA DE DIAMONDBLACKFAN

Por bioinformática y herramientas de la química computacional se pueden determinar posibles interacciones de importancia para la hematopoyesis y podrían proporcionar nuevos blancos terapéuticos en respuesta individual al tratamiento.

Identificando la región cromosómica y realizando un análisis del (chr19: 47 ' 048 ' 10047'068'200) se demuestran como un identificador de punto estratégico usando herramientas como cariotipo y la bioinformática como el genoma de UCSC (<http://www.genome.usc.edu>) para poder determinar amplicones, mutaciones y la conservación mamífera, así como las variaciones detectadas (polimorfismos nuevos y sabidos, respectivamente). Ver figura 6 y 7.

Figura 6. Cariotipo de la Banda G



El cariotipo de cromosomas representa un desplazamiento cromosómico entre los cromosomas X y 19 (izquierda). El cuadro esquemático seguido ilustra un desplazamiento equilibrado con intercambio del material cromosómico (derecho).

Figura 7. Técnica FISH en Cromosomas en Metafase



El X; el desplazamiento 19 (izquierdo), identificado con una mancha que presentaba la anemia de DBA, dio lugar a dos derivados del cromosoma; der X (Xpter-p21: 19q13pter) y der 19 (Xqter-p21: 19q13-qter).

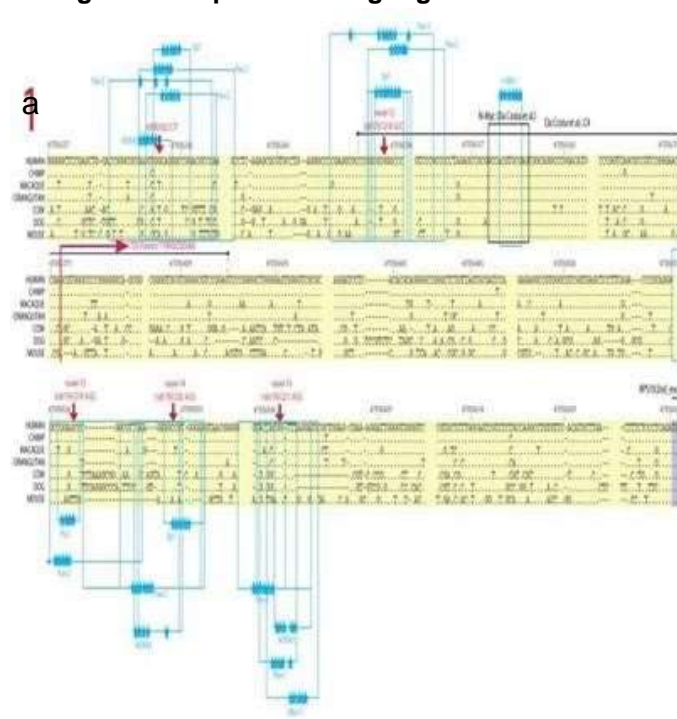
El color rojo representa una punta de prueba de la DNA específico contra una región de la DNA de 40 kb en el cromosoma 19q13. En este cuadro, el punto del desplazamiento

del cromosoma 19 se identifica en el paciente con DBA con el X; desplazamiento 19. El análisis de los (FISH) demuestra que la punta de del cromosoma cruza por hibridación a ambos derivados del desplazamiento (der X y der 19) así como al cromosoma normal 19. Ver figura 7.

Es claro cómo se pueden utilizar las herramientas bioinformáticas para complementar técnicas avanzadas de diagnóstico del laboratorio para precisar con mayor confiabilidad el diagnóstico en este tipo de patología [27-28].

Los seis exones del gene RPS19 y del extremo 39 del gene DMRTC2 localizado contra la corriente se demuestran en gris. Una visión más detallada que presenta toda la información disponible compilada en la región apuntada. La región analizada entera abarca el kbp 19 ' 980. Ver figura 8a y 8b, las cuales muestran una vista esquemática del lugar geométrico RPS19 en el cromosoma 19 [29].

**Figura 8. Esquema del lugar geométrico RSP19**







Aunque todos estos procedimientos presentan ventajas e inconvenientes, el que parece tener una mejor relación efectividad/precio es la HPLC. Las actuales técnicas de laboratorio permiten determinar con mayor precisión los tipos de anemias. Ver tabla 4.

**Tabla 4. Métodos diagnósticos de las anemias y hemoglobinopatías**

	<i>Electroforesis</i>		<i>IEE</i>	<i>HPLC</i>	<i>ESI-MS</i>	<i>Biología molecular</i>
	<i>Alcalina</i>	<i>Ácida</i>				
Coste	+	+	++	++	+++	+++
Tiempo	++	++	++	+	+++	+++
Simplicidad	++	++	++	+++	+	+
Preparación de la muestra	++	++	++	+	+	++
Especificidad	+	+	++	++	+++	+++
Sensibilidad	+	+	+	+++	+++	+++
Diagnóstico en RN	+	+	+	+++	+++	+++

*IEE: isoelectroenfoque; ESI-MS: Electrospray Ionization Mass Spectrometry; HPLC: cromatografía líquida de alta resolución; RN: recién nacidos.*

## 11. MANEJO CLÍNICO

Pfeiffer y Ambs (1983) reportaron la eficacia del tratamiento con prednisona en un paciente, lo que ya había sido divulgado para otros pacientes. En 2 de 6 pacientes, Dunbar y otros (1991) observaron la remisión continua después del tratamiento con interleukin-3 (IL3).

Willig y otros (1999) montaron un registro de 229 pacientes del DBA, incluyendo 151 de Francia, 70 de Alemania, y 8 de otros países. De 222 disponibles para el análisis de largo plazo de la carta recordativa, 62.6% respondidos inicialmente a la terapia esteroide. La sensibilidad esteroide inicial fue asociada perceptiblemente e independientemente a una edad más vieja en la presentación, a antecedentes familiares del DBA, y a cuenta de plaqueta normal a la hora de diagnosis.

## 12. PATOGENESIS

Nathan y otros (1978) sugirieron que la anemia de Diamond-Blackfan pueda ser una “anormalidad congénita de sensibilidad a eritropoyetina [EPO] que causa deficiencia funcional, si no absoluta, de precursores eritroides.” Glader y otros (1983) encontraron actividad de la desaminasa creciente de la adenosina (ADA) en glóbulos rojos de pacientes con DBS. Whitehouse y otros (1984) encontraron heterogeneidad en DBS con respecto a actividad del ADA del eritrocito y concluyó que la actividad creciente del ADA no fue limitada a las células eritroides.

Abkowitz y otros (1991) cultivó tuétano y las células mononucleares de la sangre a partir de 10 pacientes de Diamond-Blackfan con varios factores de crecimiento

hematopoyéticos en la presencia o la ausencia del factor de célula de vástago (SCF; factor de crecimiento de la célula de mástil; Factor de acero; SF).

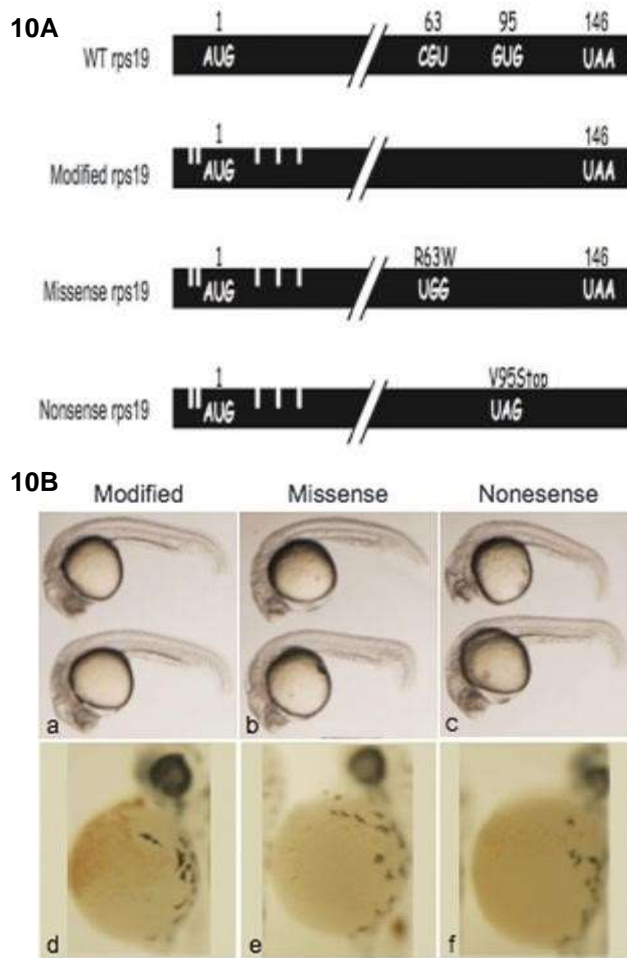
### 13. TRAZADO GENETICO

Gustavsson y otros (1997) divulgó a un paciente femenino con un desplazamiento balanceado novo (del cromosoma X 19 p21; q13) ver figura 8. El análisis de 26 familias con el DBA, Gustavsson y otros (1997) encontró el acoplamiento al cromosoma 19q13 con una cuenta máxima del lod en D19S197 (lod máximo = 7.08, theta = 0.00).

Dentro de esa región, una canceladura submicroscópica de novo del Mb 3.3 fue identificada en un paciente con el DBA. La delección coincidió con el punto de desempate del desplazamiento observado en el paciente mencionado anterior y, junto con las recombinaciones dominantes, restringió el gene del DBA a una región 1.8-Mb.

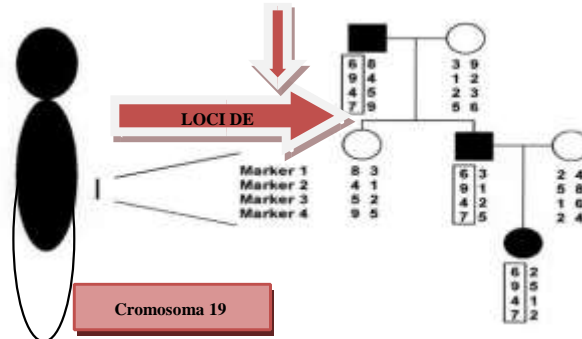
Se estudiaron cuatro codones (comienzo, parada y dos transformados comúnmente en los pacientes con DBA) se demuestran con sus números correspondientes y el aminoácido. El RPS19 modificado incluye mutaciones silenciosas (líneas blancas verticales) alrededor del codón de comienzo que producen un atascamiento en la morfología del atascamiento en la embriogénesis y reducción de eritrocitos en un modelo de zefradish [32]. Ver figura 10A y 10B.

**Figura 10. Fenotipos anormales de la morfología del Zefradish (10B) por mutaciones puntuales en la secuencia del RSP19 (10A).**



Usando los marcadores polimórficos 19q13, incluyendo una repetición corto-en tándem en la región crítica del lugar geométrico del DBA, Gustavsson y otros (1998) estudiaron 29 familias múltiplex del DBA y a 50 familias con los casos esporádicos del DBA. En 26 de las 29 familias múltiplex, el análisis de la DNA rindió los resultados constantes con un gene del DBA en 19q dentro de un intervalo 4.1-cm restringido por D19S200 y D19S178; sin embargo, en 3 familias múltiplexes, la región del candidato del DBA en 19q13 fue excluida de la segregación de los alelos del marcador. Ver figura 11.

**Figura 11. Análisis haplotípico de marcadores polimórficos genéticos en casos familiares encontrados en el Cromosoma 19**



Este resultado sugirió la heterogeneidad genética para el DBA, pero indicó que la región del gene en las segregaciones 19q con la mayoría de casos familiares. Entre las 50 familias que abarcaban casos esporádicos del DBA, Gustavsson y otros (1998) identificó 2 de novo y micro deleciones traslapados en 19q13. En la combinación, los 3 micro deleciones sabidos se asociaron al DBA restringieron la región crítica del gene a aproximadamente 1 Mb.

#### **14. GENÉTICA MOLECULAR**

Willig y otros (1999) identificaron mutaciones heterocigóticas en el gene RPS19 en 42 (24.4%) de 172 pacientes del índice con el DBA. Las mutaciones en el gene RPS19 también fueron encontradas en algunos individuos al parecer inafectados de las familias del DBA que presentaron solamente con los niveles crecientes del ADA. Los autores no encontraron ninguna correlación del genotipo/del fenotipo. Por ejemplo, en 1 familia, un par de gemelos monocigóticos tenía la misma mutación, pero solamente 1 de ellos tenía una malformación del pulgar.

Gazda y otros (2006) indicó que la mutación en el gen RPS19 ocurre en un 25% estimado de probands con el DBA. El absurdo y el empalme identificados los autores de de novo localizan las mutaciones en otra proteína ribosomal, RPS24 en 3 familias con el DBA. Esto que encuentra sugiere fuertemente que el DBA es un desorden de la síntesis del ribosoma y que las mutaciones en otras proteínas ribosomal o genes asociados que lleven a la biogénesis y/o a la función ribosomal interrumpidas pueden también causar el DBA. Gazda y otros (2006) estimaba que la mutación RPS24 ocurre en el aproximadamente 2% de los sujetos con mutaciones negativas del RPS19.

#### **15. BIOINFORMÁTICA Y ANÁLISIS DE PREDICCIÓN DE MUTACIONES POLIMÓRFICAS EN DBA**

Actualmente la bioinformática es un pilar importante para el estudio de enfermedades, destacándose su utilidad de manera paulatina. En las bases de datos públicas existe una gran cantidad de secuencias de individuos y patologías que pueden utilizar los médicos en su tarea diaria de investigar mecanismos moleculares de cualquier enfermedad [33]. El análisis bioinformático permite determinar la variabilidad genética y como se vincula esta con determinados riesgos a enfermedades como las mutaciones y polimorfismos presentados por ejemplo en el gen RPS16.

Los datos encontrados por bioinformática y técnicas de laboratorio apoyan la hipótesis de que DBA puede ser debido a un defecto en general o como a la síntesis específica de la proteína [30]. Las herramientas bioinformáticas permiten una representación virtual de un organismo o proteína, lo cual sería imposible y de una utilidad invaluable por las posibles simulaciones y predicciones. Ver cálculo de predicciones Coeficiente de Correlación de Matthew's [27].

Cálculo del coeficiente de correlación de MATTHEW'S:

$$accuracy = \frac{tp+tn}{tp+tn+fp+fn},$$

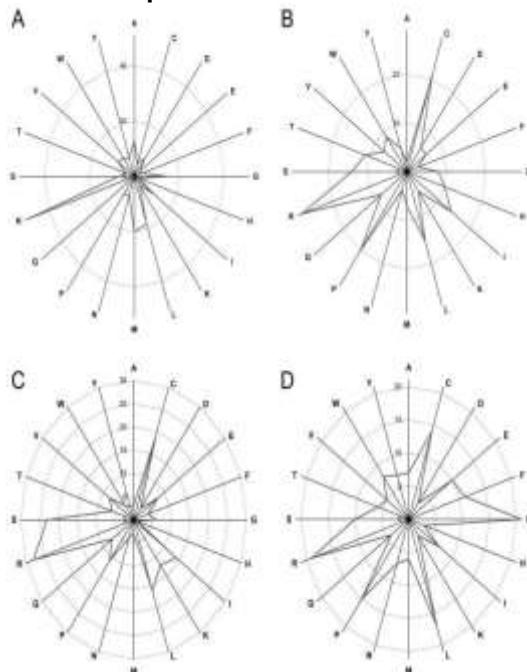
$$precision = \frac{tp}{tp+fp},$$

$$recall = \frac{tp}{tp+fn},$$

$$\text{and MCC} = \frac{tp * tn - fn * fp}{\sqrt{(tp+fn)(tp+fp)(tn+fn)(tn+fp)}}$$

Por medio de experimentos In Sílico como actualmente lo llaman algunos investigadores, el profesional de la salud debe integrar las herramientas bioinformáticas con la clínica y la epidemiología, para llegar a un enfoque de medicina integral y sistémica para predecir futuras mutaciones y por consiguiente posibles malformaciones y enfermedad, buscando la distribución de aminoácidos para los dos esquemas de la predicción. (A, B) y (C, D) predicciones de aminoácidos (A, C) en la proteína salvaje prediciendo su mutación en una determinada posición, y (B, D) aminoácidos de la proteína mutante [27-29, 32, 34]. Ver figura 12.

Figura 12. Predicción de polimorfismo en aminoácidos del gen RSP19



## CONCLUSIÓN

La importancia de la bioinformática en el estudio de los seres humanos es irrefutable. El análisis global de la expresión del gen por bioinformática muestra una luz en el entendimiento de los procesos biológicos deteriorados que pueden suceder en una célula hematopoyética a nivel de los ribosomas con su producción de proteínas cristalografiadas y reportadas en *NCBI*, *EBI* y *PROSITE*.

Se revelan una desregulación del gen implicado en biogénesis del ribosoma y síntesis de la proteína, así como el cambio de aminoácido y la secuencia del nucleótido. Los datos encontrados por bioinformática y técnicas de laboratorio apoyan la hipótesis de que DBA puede ser debido a un defecto en general o como a la síntesis específica de la proteína.

Por último recalcar la importancia de la utilización de estas herramientas para simular experimentos que nos pueden llevar a inferir futuras manifestaciones en el campo de las enfermedades genéticas y inmunitarias, entre otras.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Cmejla R, Cmejlova J, Handrkova H, Petrak J, Pospisilova D. Ribosomal Protein S17 Gene (RPS17) Is Mutated In Diamond-Blackfan Anemia. *Hum. Mutat.* 2007; 28: 1178–1182. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17647292>.
2. Angelini M, Cannata S, Mercaldo V, Gibello L, Santoro C, Dianzani I, et al. Missense Mutations Associated With Diamond–Blackfan Anemia Affect The Assembly Of Ribosomal Protein S19 Into The Ribosome. *Molecular Genetics.* 2005; 16: 1720-1727.
3. Lynn AG, Almass-Houd A-T, Pinaud NL, Legrand P, Gleizes P-E, Fribourg S. Molecular Basis Of Diamond–Blackfan Anemia: Structure And Function Analysis Of RPS19. *Nucleic Acids Research,* 2007; 35: 5913-5921. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2034476/>
4. Base de datos NCBI. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/6223> Consultado [26/12/08].
5. Liu JM, Ellis SR. Ribosomes and Marrow Failure: Coincidental Association or Molecular Paradigm? *Blood.* 2006; 107:4583–4588.
6. Matsson H, Davey EJ, Draptchinskaia N, Hamaguchi I, Ooka A, Levéen P, et al. Targeted Disruption Of The Ribosomal Protein S19 Gene Is Lethal Prior To Implantation. *Mol. Cell. Biol.* 2004; 24:4032–4037.
7. Miyake K, Flygare J, Kiefer T, Utsugisawa T, Richter J, Ma Z, et al. Development Of Cellular Models For Ribosomal Protein S19 (RPS19)-Deficient Diamond Blackfan Anemia Using Inducible Expression Of Sirna Against RPS19. *Mol. Ther.* 2005; 11:627–637. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15771965>
8. Gazda H, Lipton JM, Willig T-N, Ball S, Niemeyer CM, Tchernia G, et al. Evidence for linkage of familial Diamond-Blackfan anemia to chromosome 8p23.3-p22 and for non-9q non-8p disease. *Blood.* 2010; 97:2145-2150
9. Willig TN, Draptchinskaia N, Dianzani I, Bola S, Niemeyer C, Ramenghi U, et al. Mutations in ribosomal protein S19 gene and diamond blackfan anemia: wide variations in phenotypic expression. *Blood* 1999; 94: 4294-4306.
10. Quarello P, Garelli E, Carando A, Brusco A, Calabrese R, Dufour C, et al. Diamond-Blackfan Anemia: Genotype-Phenotype Correlation In Italian Patients With RPL5 And RPL11 Mutations. *Haematologica,* 2010; 95: 206-213
11. Shamma C, Menne TF, Hilcenko C, Michel SR, Goyenechea B, Boococ G, Et Al. Structural And Mutational Analysis Of The SBDS Protein Family: Insight Into The Leukemia-Associated Shwachman-Diamond Syndrome. *J Biol Chem.* 2005; 280: 19221-19229.

12. Diamond LK, Allen DM, Magill FB. Congenital (erythroid) hypoplastic anemia. A 25-year study. *Am J Dis Child* 1961; 102: 403-415 Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13722603>
13. Alter BP. Thumbs and anemia. *Pediatrics* 1978; 62: 613-614. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=714597>
14. Estructura de la proteína ribosomal S19 humana. Consultada en Base de datos NCBI. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/structure?term=ribosomal%20protein%20S19%20homo%20sapiens> [consultado: 19/10/2009]

**CSV: Vol. 2 No.1 Año 2010.**

15. Cathie IAB.. Erythrogenesis Imperfecta. [Arco. SID. Niño. 1950; 25: 313-324.](#)
16. Gorlin RJ, Cohen MM, Levin LS. Síndromes de la cabeza y del cuello. Nueva York: Oxford Univ. Presione (Pub.) (3ro Ed.) 1990. P. 744.
17. Hurst JA, Baraitser M, Wonke B. Autosomal dominant transmission of congenital erythroid hypoplastic anemia with radial abnormalities. *Am J Med Gnet* 1991; 40: 482-484. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1746615>
18. Willig T-N, Niemeyer CM, Leblanc, T, Tiemann C, Robert A, Budde J, et al. Identification of new prognosis factors from the clinical and epidemiologic analysis of a registry of 229 Diamond-Blackfan anemia patients. DBA group of Société d'Hématologie et d'Immunologie Pédiatrique (SHIP), Gesellschaft für Pädiatrische Onkologie und Hämatologie (GPOH), and the European Society for Pediatric Hematology and Immunology (ESPHI). *Pediatr Res* 1999; 46: 553-561 Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10541318>
19. Vives-Corróns JL. Avances en la detección y diagnóstico de las anemias poco frecuentes. [Haematologica/Edición Española 2005; 90: 6-11](#)
20. Vives Corróns JL. El Laboratorio en el diagnóstico de las anemias. en: Análisis Clínicos. Modulo I. Consejo General De Colegios. Oficiales De Farmacéuticos. Madrid: Acción Médica; 2004. P. 217-40
21. Burgert EO, Kennedy RL, Pease GL. Congenital hypoplastic anemia. *Pediatrics* 1954; 13: 218-226. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13155070>
22. Wallman, IS. Aplasia Hereditaria del Glóbulo Rojo. *MED. J. Aust.* 1956. 2:488 – 490.
23. Danilova N, Sakamoto KM, Lin S. Ribosomal Protein S19 Deficiency In Zebrafish Leads To Developmental Abnormalities And Defective Erythropoiesis Through Activation Of P53 Protein Family. [Blood. 2008; 112: 5228–5237.](#)
24. Idol RA, Robledoa S, Dua HY, Crimmins DL, Wilsonc DB, Ladensonb JH, et al. Cells Depleted For RPS19, A Protein Associated With Diamond Blackfan Anemia, Show Defects In 18S Ribosomal RNA Synthesis And Small Ribosomal Subunit Production. *Blood Cells, Molecules, And Diseases.* 2007; 39: 35-43. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17376718>
25. Liu JM, Ellis SR. Ribosomes And Marrow Failure: Coincidental Association Or Molecular Paradigm? [Blood, 2006; 107:4583-4588](#)
26. Savchenko A, Krogan N, Cort JR, Et Al. The Shwachman-Bodian-Diamond Syndrome Protein Family Is Involved In RNA Metabolism. [J Biol Chem. 2005; 280: 19213-19220.](#)
27. Gustavsson P. Merging Classical And Modern Genetic Tools In The Identification Of Disease Genes. *Upsala J Med Sci* 2002; 107: 1-8 Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12296448>
28. Gustavsson P. Diamond-Blackfan Anemia Mapping And Identification Of The Disease Gene. *Acta Universitatis Upsaliensis. Comprehensive Summaries Of Uppsala Dissertations From The Faculty Of Medicine.* 2000; 974: 13-15. <http://uu.diva-portal.org/smash/record.jsf?isbn=91-554-4861-5>
29. Kirsti Laurila And Mauno Vihinen. Prediction Of Disease-Related Mutations Affecting Protein Localization. [BMC Genomics. 2009; 10: 122](#)
30. Avondo F, Roncaglia P, Crescenzo N, Krmac H, Garelli E, Armiraglio M, et al. Fibroblasts From Patients With Diamond-Blackfan Anaemia Show Abnormal Expression Of Genes Involved In Protein Synthesis, Amino Acid Metabolism And Cancer. *BMC Genomics* 2009; 10: 442. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2760583/>
31. Cech N, Enke C. Practical Implication of Some Recent Studies In Electrospray Ionization Fundamentals. [Mass Spectrometry Reviews. 2001; 20: 362-387.](#)

32. Doherty L, Sheen MR, Vlachos A, Choesmel V, O'Donohue MF, Clinton C, et al. Ribosomal Protein Genes RPS10 And RPS26 Are Commonly Mutated In Diamond-Blackfan Anemia. [Am J Hum Genet 2010; 86: 222–228.](#)
33. Ellis SR, Massey AT. Diamond Blackfan Anemia: A Paradigm For A Ribosome-Based Disease. *Med Hypotheses*. 2006; 66:643-648. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16239073>
34. Lipton JM, Atsidaftos E, Zyskind I, Vlachos A. Improving Clinical Care And Elucidating The Pathophysiology Of Diamond Blackfan Anemia: An Update From The Diamond Blackfan Anemia Registry. *Pediatr. Blood Cancer*. 2006; 46: 558–564. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16317735>