Descargado el: 9-11-2026 ISSN 1727-897X

COMUNICACIÓN BREVE

Confirmación de variantes estructurales de hemoglobina empleando gel ácido en la tecnología Hydrasys

Confirmation of Structural Variants of Hemoglobin Using Acid Gel in Hydrasis Technology

Jacqueline Pérez Rodríguez[1] Yadira Valdés Fraser[1] Giselle Gámez Torres[1] Tatiana Acosta Sánchez[1] Jazminia Moreno Arango[1]

[1] Centro Nacional de Genética Médica, La Habana, La Habana, Cuba

Cómo citar este artículo:
Pérez-Rodríguez J, Valdés-Fraser Y, Gámez-Torres G, Acosta-Sánchez T, Moreno-Arango J. Confirmación de variantes estructurales de hemoglobina empleando gel ácido en la tecnología Hydrasys. **Medisur** [revista en Internet]. 2013 [citado 2026 Nov 9]; 11(3):[aprox. 4 p.]. Disponible en: https://medisur.sld.cu/index.php/medisur/article/view/2477

Resumen

Fundamento: En el Centro Nacional de Genética Médica se realiza la pesquisa de las principales anormalidades de la hemoglobina de interés clínico (HbS, HbC) a gestantes de la provincia de Artemisa con la tecnología Hydrasys utilizando geles alcalinos de agarosa. El empleo de estos geles no permite discernir entre las hemoglobinas S y D ni entre la C y la E, pues estas Hb migran en la misma posición.
Objetivo: evaluar el empleo del gel ácido para diferenciar las HbD y HbE de acuerdo con su movilidad en la electroforesis de hemoglobina.
Métodos: estudio descriptivo mediante el método de electroforesis de hemoglobina con tecnología Hydrasys, para analizar 200 muestras biológicas de sangre total procedente de gestantes y de sujetos enfermos y portadores de siclemia. Se consideraron como límites de aceptabilidad: a)correlación en las corridas electroforéticas en gel ácido con respecto al gel alcalino, b)migración correcta de las bandas de Hb y c)buena interpretación de los resultados.
Resultados: el 98 % de las muestras analizadas en el gel ácido mostraron correspondencia con las obtenidas en gel alcalino. En tres muestras no fue posible determinar y confirmar la variante de hemoglobina.
Conclusión: el empleo de geles ácidos para la corrida electroforética con la tecnología Hydrasys, permitió obtener resultados que confirman el diagnóstico de las hemoglobinopatías.

Palabras clave: hemoglobinopatías, diagnóstico, hemoglobinas anormales, hemoglobina C, hemoglobina falciforme, electroforesis

Abstract

Background: The National Medical Genetics Center has conducted a research on the major hemoglobin abnormalities of clinical interest (HbS, HbC) present in pregnant women in the province of Artemisa, using Hydrasis technology with alkaline agarose gels. The use of these gels does not allow distinguishing hemoglobin S from hemoglobin D or hemoglobin C from hemoglobin E, as these hemoglobins migrate in the same position.
Objective: to assess the use of acid gel to differentiate haemoglobin D from haemoglobin E by their mobility in hemoglobin electrophoresis.
Methods: a descriptive study was conducted using hemoglobin electrophoresis with Hydrasis technology to analyze 200 biological samples of whole blood from pregnant women and individuals with sicklemia or carrying the disease. The acceptance limits included a) correlation of electrophoresis run in acid gel in relation to alkaline gel, b) correct migration of the hemoglobin bands and c) good interpretation of the results.
Results: 98 % of the samples analyzed with acid gel showed correspondence with those obtained with alkaline gel. It was not possible to determine and confirm the hemoglobin variant in three samples.
Conclusions: the use of acid gels in electrophoresis run with the Hydrasis technology provided results which confirm the diagnosis of hemoglobinopathies.

Key words: hemoglobinopathies, diagnosis, hemoglobins, abnormal, hemoglobin C, hemoglobin, sickle, electrophoresis

Aprobado: 2013-04-15 08:38:29

Correspondencia: Jacqueline Pérez Rodríguez. Centro Nacional de Genética Médica yadirav@cngen.sld.cu

INTRODUCCIÓN

La hemoglobina (Hb), componente fundamental de las células rojas sanguíneas, es el soporte en la transferencia de O2 de los pulmones a los tejidos periféricos. Es una molécula compleja integrada por dos pares de cadenas polipeptídicas. Cada cadena está ligada al hemo, un núcleo tetrapirrólico (porfirina) al que está coordinado un átomo de hierro.[1] La estructura hemo es común a todas las hemoglobinas y sus variantes. El tipo de Hb está determinado por la fracción proteínica, llamada globina. Las cadenas polipeptídicas α, β, γ, δ, constituyen las hemoglobinas humanas normales: HbA (α2β2), Hb A2 (α2δ2), Hb fetal F (α2γ2). La estructura espacial de la Hb y otras de sus propiedades moleculares (así como las de todas las proteínas) dependen de la naturaleza y la secuencia de los aminoácidos que constituyen las cadenas. La sustitución de aminoácidos por mutación es la causa de la formación de variantes de Hb, las cuales tienen una carga superficial distinta y, por tanto, movilidades electroforéticas diferentes, que también dependen del pH y la fuerza iónica del tampón. Ante un pH ácido, la movilidad se ve también afectada por la interacción electrostática entre las moléculas de Hb cargadas positivamente y las cargas negativas del agar.[2-5]

En el Centro Nacional de Genética Médica se realiza la pesquisa de las principales variantes de la hemoglobina de interés clínico (HbS, HbC) a gestantes de la provincia de Artemisa, con la tecnología Hydrasys utilizando geles alcalinos de agarosa. El empleo de estos geles alcalinos no permite discernir entre las hemoglobinas S y D ni entre la C y la E, pues migran en la misma posición. En el año 2011 se introdujo en el laboratorio la electroforesis de hemoglobina en gel ácido con el objetivo de confirmar los resultados positivos de pacientes portadoras. El empleo de estos geles es esencial para confirmar la identificación de las variantes de hemoglobina detectadas previamente en geles alcalinos, especialmente para diferenciar la Hb S de la D y la Hb E de la C.5-[8]

Teniendo en cuenta los criterios antes mencionados, es objetivo de esta investigación evaluar el empleo del gel ácido para diferenciar las HbD y HbE de acuerdo con su movilidad en la electroforesis de hemoglobina.

MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo con 200 muestras, tomadas a gestantes portadoras de siclemia y a otros sujetos también portadores y enfermos, de un total de 8047 pacientes estudiados en el período enero de 2011 a mayo de 2012 en el CNGM. Las muestras empleadas fueron sangre total con EDTAK2 proveniente de la provincia de Artemisa y el rango de edad fue entre 18 y 30 años. Estas muestras fueron separadas de la identificación del paciente, añadidas a viales Eppendorf nuevos de 2mL y rotuladas por orden de llegada desde el número 1 al 200 con el objetivo de realizar el presente trabajo.

Las muestras fueron almacenadas a 2-8 0C desde el primer día hasta los 7 días en que concluyeron los análisis. Los glóbulos rojos de la sangre se lavaron dos veces con solución salina y centrifugados a 5000 revoluciones por minuto durante cinco minutos, se eliminó el exceso de solución salina que quedó en la superficie del coágulo de glóbulos rojos lavados y por último se hemolizaron 10 µl de glóbulos rojos con 130 µl de solución hemolizante. Para realizar las corridas electroforéticas de este estudio se utilizaron dos módulos HYDRAGEL 15 ACID(E) HEMOGLOBIN(E), que contienen geles de agarosa tamponados ácidos (pH 6.0). Se empleó la tecnología HYDRASYS y la electroforesis se llevó a cabo usando como muestra el hemolizado obtenido a partir de glóbulos rojos lavados. Las hemoglobinas fueron separadas y teñidas con negro amido.

La eficiencia en las corridas electroforéticas de las muestras se determinó cualitativamente, observando y comparando los resultados alcanzados en los geles alcalinos con los obtenidos en los geles ácidos. Se consideraron como límites de aceptabilidad: a)correlación en las corridas electroforéticas en gel ácido con respecto al gel alcalino, b)migración correcta de las bandas de Hb y c)buena interpretación de los resultados.

RESULTADOS

En el período estudiado, del total de 200 muestras analizadas, se pudieron confirmar 197 lo cual representa un 98,5 %; 127 muestras con Hb AS, 62 con Hb C, 4 con Hb SC, 1 con Hb SS y 3 con Hb fetal, existiendo una correspondencia con los resultados obtenidos con el sistema de agarosa comparado (corrida electroforética en gel alcalino), así como con los resultados y el informe diagnóstico del genetista.

En 3 muestras positivas (1,5 %) no se ha podido determinar la variante de hemoglobina, pues se observaron movilidades aberrantes y bandas anormales adicionales.

En las figuras 1 y 2 se muestran las discrepancias entre los resultados obtenidos en gel alcalino y en gel ácido en tres muestras estudiadas.

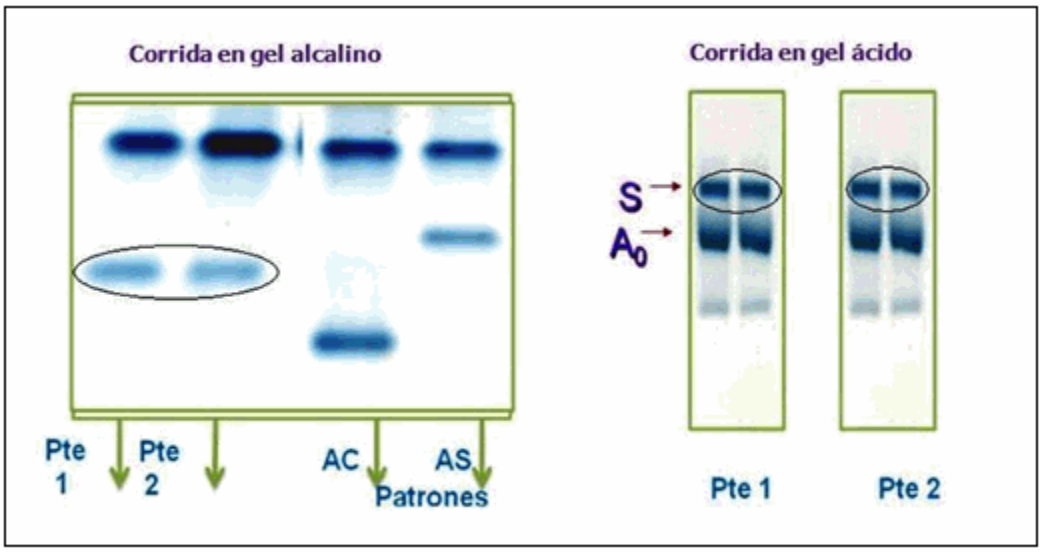


Figura 1. Corridas electroforéticas de dos muestras en gel alcalino y gel ácido

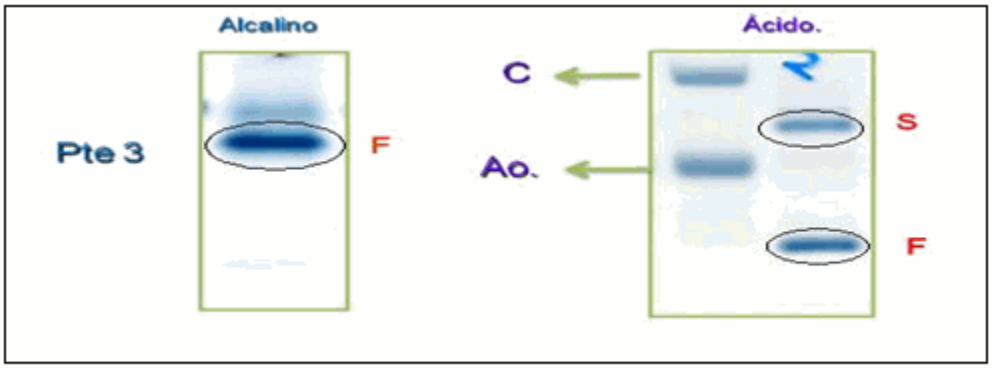


Figura 2. Corridas electroforéticas de una muestra en gel alcalino y gel ácido.

DISCUSIÓN

Reportes de la OMS señalan que la frecuencia de heterocigotos del rasgo S es cercana al 2 %, y llega a ser del 15 % en África. La enfermedad está ampliamente difundida por Latinoamérica, en especial, el Caribe Insular y países como Colombia, Venezuela y Brasil; se extiende por el Mediterráneo y es tan endémica en África como lo es la malaria, con la que comparte las zonas

de distribución geográfica.[2,9,10]

La anemia falciforme es la enfermedad hereditaria más frecuente en Cuba. La frecuencia de heterocigotos para la Hb S es 13,25 % en individuos con piel negra, 0,65 % en personas con color de la piel blanca, y 3,085 % para la población general y del 0,7 % de personas heterocigóticas para la hemoglobina C.[7,9,11]

En 197 muestras estudiadas, los resultados obtenidos en un mismo individuo ya sea portador o enfermo, utilizando un mismo método de electroforesis, pero con empleo de dos geles diferentes, arrojaron resultados iguales, lo que demuestra la utilidad del gel ácido. Solo en las tres muestras restantes del estudio hubo discrepancia entre los resultados. Estos valores sustentan la necesidad de confirmación de las variantes estructurales de hemoglobina para la detección de parejas en riesgo para la enfermedad en nuestra comunidad y en Cuba en general, con el empleo de geles ácidos.

Teniendo en cuenta que la mayoría de las hemoglobinopatías están dadas por la sustitución por mutación de un solo aminoácido en una de las cuatro cadenas polipeptídicas, el significado clínico de tales cambios depende del tipo de aminoácido involucrado y de su posición, afectándose las cadenas α o β.[5,12] Según este criterio y observando los resultados obtenidos (Figura 1), en dos casos estudiados donde se obtuvo una banda entre las HbS y HbC en gel alcalino, se puede pensar que es una banda anormal, pero si se observan las corridas en el gel ácido puede notarse que aparece una HbS, lo que denota que existió una disminución de la carga total de esta Hb con una migración más lenta que lo acostumbrado en el gel alcalino. Aún se encuentran en estudio estos casos, con el fin de determinar las constantes corpusculares y otras pruebas complementarias para dar un resultado definitorio.

En el caso del tercer paciente (Figura 2), con gel alcalino se observa una banda Hb F, con una ligera banda en HbA, y sin embargo, en gel ácido aparecen dos bandas, una en HbS y otra Hb F. En este caso específico hay que considerar que se trata de una persona homocigoto S, que puede presentar persistencia de Hb F; que no obstante no presentaba síntomas clínicos de ser homocigoto, la prueba de solubilidad (detecta presencia de Hb S) le dio negativa; y además no ha sido transfundido por causas de este tipo: Por ello, todavía se encuentra en estudio el caso con ayuda del instituto de hematología en Panamá y de la compañía Sebia, para llegar a la conclusión más acertada.

El empleo de los geles ácidos para la confirmación de variantes estructurales de hemoglobina mediante la tecnología Hydrasys en el CNGM, ha permitido lograr resultados concluyentes para el diagnóstico de las hemoglobinopatías y hasta el momento sin la presencia de Hb D ni Hb E. Además nos trazamos nuevas metas de investigaciones en la búsqueda de diferentes variantes de hemoglobinas y de hemoglobinas raras, para ofrecer un resultado concluyente a los pacientes a través del programa prenatal de detección de hemoglobinopatías.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hoja informativa para los padres 5/2009 [Internet]. Utah: Newborn Screening Program; 2009. [cited 20 Oct 2012] Available from: http://utah.ptfs.com/awweb/main.jsp?flag=browse&smd=1&awdid=1.

2. Álvarez Guerra ED, Fernández García A. La anemia de hematíes falciformes: Investigaciones para el diagnóstico y tratamiento. Ciencia en su PC. 2007 ; 4: 1-11.

3. Huisman THJ. The hemoglobinopathies. New York: Churchill Livingstone; 1986.

4. Hydragel 7 & 15 Hemoglobin(E)-2006/10 [Internet]. Buenos Aires: Instrucciones Sebia; 2006. [cited 2 Abr 2010] Available from: http://www.bganalizadores.com.ar/img/230f8f27009da895e92fe8481a901e5214106_es.pdf.

5. Hydragel 7 & 15 Hemoglobin(E)-2009/12 [Internet]. Buenos Aires: Instrucciones Sebia; 2009. [cited 2 Abr 2010] Available from: http://www.diagnosticsolutions.com.au/admin/upload/file/SE_Hydragel_7_AcidHemoglobin_IFU.pdf.

6. Martín Ruiz MR, Granda Ibarra H. Indicación temprana de electroforesis de hemoglobina a gestantes de Ciudad de La Habana [Internet]. Rev Cubana Med Gen Integr [revista en Internet]. Buenos Aires: Instrucciones Sebia; 2000. [cited 15 Sep 2011] ; 16 (3): [aprox. 7p]. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0864-21252000000300004&script=sci_arttext.

7. Martín Ruiz M. Anemia de células falciformes: un programa de nivel primario de atención. In: Lantigua CA. Introducción a la Genética Médica. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2006.

8. Martín Ruiz MR. Programa de prevención de anemia falciforme (III). La electroforesis de hemoglobina: indicación e interpretación. Rev Cubana Med Gen Integr [revista en Internet]. 2009 [cited 15 Sep 2011] ; 12 (2): [aprox. 6p]. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21251996000200006&lng=es&nrm=iso&tlng=es.

9. Cholera R, Brittain NJ, Gillrie MR, Lopera T, Diakité S, Arie T, et al. Impaired cytoadherence of Plasmodium falciparum-infected erythrocytes containing sickle hemoglobin. Proc Natl Acad Sci USA. 2008 ; 105 (3): 991-6.

10. Wajcman H. Diagnosis and screening of sickle cell disease. Rev Prat. 2004 ; 54 (14): 1543-7.

11. Fernández AJ, Cabrera ZM, Álvarez FO, Prieto JL, Mediaceja VL, Villares A. Comprehensive care for patients with sickle cell disease in Cuba. Haematologica. 2008 ; 93 (1): e20.

12. Martín MR, Beltrán Y, Castro M, Fuentes LE. Tasas de incidencia de la Anemia de Células Falciformes y de la Enfermedad de la Hemoglobina SC en Ciudad de La Habana, Cuba, de 1995 a 2004. Rev Cubana Genet Comunit [revista en Internet]. 2007 [cited 15 Sep 2011] ; 1 (1): [aprox. 12p]. Available from: http://bvs.sld.cu/revistas/rcgc/v1n1/gco08107.pdf.