

Detección de hemoglobinopatías en pesquisa de portadores de anemias falciformes. Centro Nacional de Genética Médica

Valdes-Fraser Y, Fuentes-Cortes I, Pérez-Rodríguez J³, Gámez-Torres G, Acosta-Sánchez T, Suárez-Besil B.

Centro Nacional de Genética Médica, La Habana, Cuba

Email: yadirav@cngen.sld.cu

RESUMEN

El programa cubano de pesquisa de anemia por hematíes falciformes (AHF) comenzó en 1982, permitiendo la identificación precoz de portadores y la posibilidad de diagnóstico prenatal. El diagnóstico confirmatorio de las hemoglobinopatías AD y DD por Electroforesis de Hemoglobina (EHB) con gel de agarosa en medio ácido se introdujo en enero 2011 en el Centro Nacional de Genética Médica. El empleo de estos geles es para confirmar y especialmente para diferenciar la hemoglobina S del D. Para describir las experiencias después de cinco años de introducción de este método en el diagnóstico confirmatorio de los casos positivos del Programa de Pesquisa de Portadores de Anemia por Hematíes Falciformes, se realizó un estudio descriptivo, retrospectivo, de serie de casos positivos obtenidos en gel de agarosa en medio alcalino, desde enero 2011 a julio 2015. Se empleó la técnica de electroforesis de hemoglobina con la tecnología Hydrasys en gel de agarosa en medio alcalino y ácido, empleando como muestra biológica: sangre total con EDTA. El universo y muestra de estudio fue de 750 gestantes y cónyuges detectados positivos en el Programa de Pesquisa Prenatal. Se detectaron con hemoglobina AS 728 casos: se confirmaron 12 variantes heterocigotos AD (1,6%). Se detectaron 22 casos homocigoto SS de ellos se confirmó un caso homocigoto DD (0,13%). La confirmación de hemoglobinopatías ha contribuido al mejoramiento y calidad del programa apoyando principalmente la labor del asesor genético. La frecuencia de hemoglobina AD y DD pudiera deberse a las migraciones como fenómeno que afecta la dinámica de las poblaciones.

Palabras clave: anemia falciforme, hemoglobinopatías, variantes de hemoglobinas, electroforesis.

INTRODUCCIÓN

La anemia de hematíes falciformes (AHF), anemia drepanocítica es una anemia hemolítica que cursa con cuadros dolorosos recurrentes, de intensidad variable, producidos por eventos de oclusión vascular diseminados en diferentes órganos. La denominación de sickleemia, término éste, con el cual se le conoce más popularmente surge del hallazgo de eritrocitos alterados morfológicamente en frotis de sangre, vistos al microscopio; es la traducción de la frase nominal inglesa *sickle cell anemia*. La enfermedad se origina a partir de la mutación del adn en el sexto cordón del *cluster* de la hemoglobina. Es, en β -globina que codifica la cadena β consecuencia, una enfermedad de transmisión hereditaria. La anemia falciforme, en sus formas clínicas y genéticas SS y SC, son los tipos más frecuentes en Cuba.

El programa cubano de portadores de AHF se inició en 1982, basado en la pesquisa de hemoglobinas (Hb) anormales mediante el estudio de electroforesis de Hb a todas las gestantes en la atención primaria de salud. La principal misión del programa es la detección de parejas de alto riesgo, preconcepcionalmente o en etapas tempranas del embarazo, de manera que estas puedan recibir asesoramiento genético y decidir su conducta reproductiva en relación al embarazo en curso, en dependencia de la severidad clínica, y de esta manera asegurar la atención médica en el país.^{1,2}

El Centro Nacional de Genética Médica (CNGM) es una institución que tiene como principal misión coordinar nacionalmente, así como orientar, evaluar y controlar la ejecución de los distintos subprogramas del Programa de Diagnóstico y Prevención de Enfermedades Genéticas en el país. Teniendo en cuenta lo antes plateado, en el año 2008 se instala una nueva tecnología de electroforesis de hemoglobina (Hydrasys) a nivel nacional, para optimizar los resultados del programa AHF. El diagnóstico confirmatorio de las hemoglobinopatías AD y DD con empleo de geles de agarosa a pH ácido se implementó en el año 2011 en la propia institución. 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.³

OBJETIVOS

General: Describir las experiencias después de la introducción del método confirmatorio de hemoglobinopatías en el CNGM.

Específicos: Analizar y evaluar las electroforesis de hemoglobina en geles de agarosa a pH ácido a todos los casos positivos del programa de portadores de AHF en el CNGM.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo, retrospectivo, de serie de casos positivos obtenidos en gel de agarosa en medio alcalino, en un período de cinco años a partir de la introducción de la tecnología de geles ácidos para los estudios confirmatorios. El universo y muestra de estudio fue de 750 gestantes y cónyuges detectados positivos en el programa de pesquisa de AHF.

Las muestras biológicas empleadas en el estudio es sangre total con EDTA, identificadas con los datos del paciente en una orden emitida por el médico general integral de atención primaria. En el laboratorio de Genética Bioquímica, para la realización de la pesquisa del programa de AHF a través de la electroforesis de hemoglobina se emplearon geles de agarosa en medio alcalino: Kits Hydragel Hb alcalino 7/15, este permite el tamisaje de las principales hemoglobinas de interés clínico (Hb: A, S, C y Fetal).⁴ La diferenciación y confirmación de las hemoglobinas más comunes de acuerdo a su movilidad (Hb: D, E, H, Bart y distintas talasemias) se realizaron en gel de agarosa en medio ácido: Kits Hydragel Hb ácido 7/15.³ Se empleó la tecnología Hydrasys y la electroforesis se llevó a cabo utilizando como muestra 10 µL del 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 los resultados alcanzados en los geles alcalinos con los obtenidos en los geles ácidos.

RESULTADOS

En el CNGM se han detectado a través del programa de pesquisa prenatal de anemia por hematíes falciformes un total de 750 gestantes y cónyuges con algún tipo de anemia hemolítica, (rasgo falciforme de Hb S) lo que ha permitido conocer que la frecuencia de mujeres portadoras hasta ese entonces es de 3,7 % con predominio de la variante AS en 728 casos analizadas. El número de esposos que aceptaron estudiarse una vez conocida la condición de portadora de su cónyuge

fue de 524, detectándose 30 parejas de alto riesgo. En el estudio confirmatorio de casos positivos en la electroforesis de hemoglobina empleando el soporte ácido, se confirmaron 12 variantes heterocigotos AD (1,6 %). se detectaron 22 casos homocigoto SS / heterocigoto SC de ellos se confirmó un caso homocigoto DD (0,13 %).

En la confirmación de 12 muestras hubo discrepancia en los resultados: en soporte alcalino se mostraba un fenotipo A/S mientras que el soporte ácido demostró el fenotipo A/D. Otra muestra analizada mostraba un fenotipo S/S y en soporte ácido resultó ser un D/D. Estos casos que se confirmaron como hemoglobina D corresponden a la variante muy rara y que afecta a ambos sexos igualmente, la cual es resultante de la sustitución de ácido glutámico por glicina en la posición 121 de la cadena beta. En su forma heterocigoto la presencia de la hemoglobina D, no tiene síntomas de enfermedad y no requieren tratamiento. La distribución geográfica de la hemoglobina D es variada; ha sido encontrada en personas cuyos antepasados vienen de Pakistán e India. También ocurre en personas de Inglaterra, Irlanda, Holanda, Australia, China y el Oriente Próximo.⁵ 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. La interpretación de estas muestras, conjuntamente con las muestras observadas en los geles alcalinos fue consistente con el diagnóstico clínico. Teniendo en cuenta la existencia de este tipo de hemoglobina en nuestra población se sustenta la necesidad de confirmación de todas las variantes estructurales anormales de hemoglobinas para la detección de parejas en riesgo.

CONCLUSIONES

Se confirmaron nuevas variantes de hemoglobinas (Hb AD, DD) no muy frecuentes en nuestro país, evitando falsos resultados en la pesquisa de portadores de anemias por hematíes falciformes. La confirmación a través de geles ácidos de la tecnología Hydrasys en el CNGM, ha permitido lograr y trazar nuevas metas de investigación en el diagnóstico de las hemoglobinopatías. Los resultados de los indicadores de la pesquisa en el tiempo evaluado mostraron la importancia de continuar y optimizar este programa en Cuba.

RECOMENDACIONES

Que se realice la confirmación de hemoglobinas a través de los geles ácidos, en todo el ámbito nacional de nuestro país, pues de esta manera garantizaremos la futura descendencia de cada pareja en Cuba.

BIBLIOGRAFÍA

1. Taboada-Lugo N, Gómez-Rojo M, Algora-Hernández AE, Noa-Machado MD, Arcas Ermeso G, et al. Resultados del programa de prevención de hemoglobinopatías SS y SC en el periodo 1987-2007 en la provincial Villa Clara, Cuba. Rev Cubana Genet Comunit. 2011; 4 (1):37-41.
2. Torre-Hernández CA, Marcheco-Teruel B. Impacto del Programa de Diagnóstico de Anemia por Hematíes Falciformes en La Habana: 2007-2010. Rev Cubana Genet Comunit. 2013;7(3):31-5
3. Manual de HYDRAGEL 15 ACID (E) HEMOGLOBIN (E), edición 6, 2015.
4. Manual de Electroforesis Hydragel 15 Hemoglobin (E), edición 1, 2015.
5. 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.. 2013; 11 (3): 330-4