



Aplicación del protocolo para la confirmación de Talasemias en gel de agarosa a pH ácido

Autora: Ing. Yadira Valdes Fraser

Coautor: MsC. Tatiana Acosta Sánchez

**Centro Nacional de Genética Médica
FORUM DE CIENCIA Y TÉCNICA**

Junio, 2020

***Email: yadirav@cngen.sld.cu
yadiravf@informed.sld.cu***

INTRODUCCIÓN



DEFINICIÓN

ANEMIA SECUNDARIA A DEFECTO DE LA SINTESIS DE LA HEMOGLOBINA.

Es un trastorno sanguíneo que se transmite de padres a hijos (hereditario) en el cual el cuerpo produce una forma anormal de hemoglobina, la proteína en los glóbulos rojos que transporta el oxígeno. Este trastorno ocasiona destrucción excesiva de los glóbulos rojos, lo cual lleva a que se presente anemia.



Formas Hereditarias



Hemoglobinopatías Cualitativas

Anomalías estructurales, mutación o sustitución de uno o más aminoácidos, modificando la carga eléctrica de la molécula de hemoglobina.

HEMOGLOBINOPATÍAS

Hemoglobinopatías Cuantitativas

Anomalías cuantitativas, defecto parcial o total en la síntesis de la hemoglobina.

TALASEMIAS

TALASEMIAS

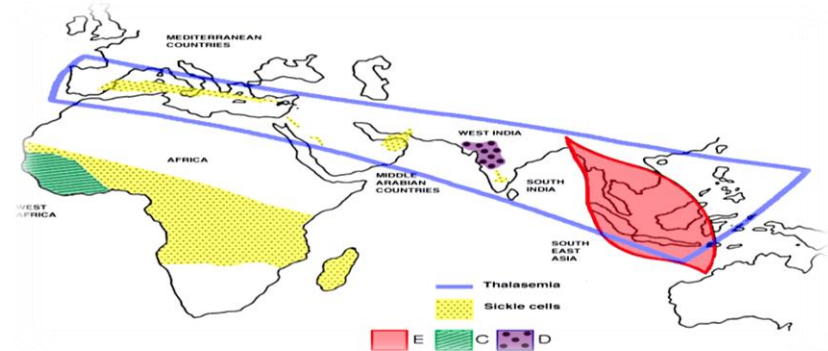


Las talasemias (palabra que deriva del griego *thalassa, mar*) son frecuentes en el área mediterránea, en la población africana, el subcontinente indio y el sudeste asiático.

CLASIFICACIÓN

Cada tipo de talasemia recibe el nombre de la cadena que deja de sintetizarse o cuya síntesis se encuentra disminuida.

- Talasemia Alfa
- Talasemia Beta
- Delta
- Delta/Beta
- Gama/Delta/Beta



TÉRMINOS PARA INDICAR LA GRAVEDAD CLÍNICA



Talasemia Mayor

Las mutaciones de la cadena α en el cromosoma 16 afecta a los cuatro genes (involucrando a ambos cromosomas homólogos) causando un hidropesía fetal caracterizada por hemoglobinas con solamente cuatro cadenas γ (gamma) y es incompatible con la vida

Talasemia Intermedia

Forma menos grave. Requieren menos transfusiones, pero pueden desarrollar hemosiderosis. Presentan una anemia leve, una media de 2-3 g/dl por debajo del nivel correspondiente a la edad del paciente.

Talasemia Menor (mínima)

Las mutaciones de la cadena β en el cromosoma 11 afecta a uno de los genes causando una talasemia relativamente leve caracterizada por una hemoglobina con tres α y una β globina. Puede que no haya síntomas como puede que los síntomas sean intermedios entre leve y graves.

PROTOCOLO DE CONFIRMACIÓN

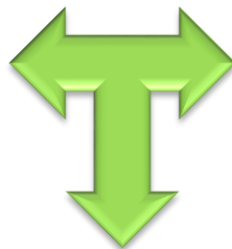


1er Paso

Kits: Hydragel Hb Alcalino 7/15

Gel de Agarosa: 8 g/L ; tampón alcalino
pH 8.5 ± 0.1

➤ Permite el **tamisaje** de las principales hemoglobinas de interés clínico (A,S,C y Fetal)



2do Paso

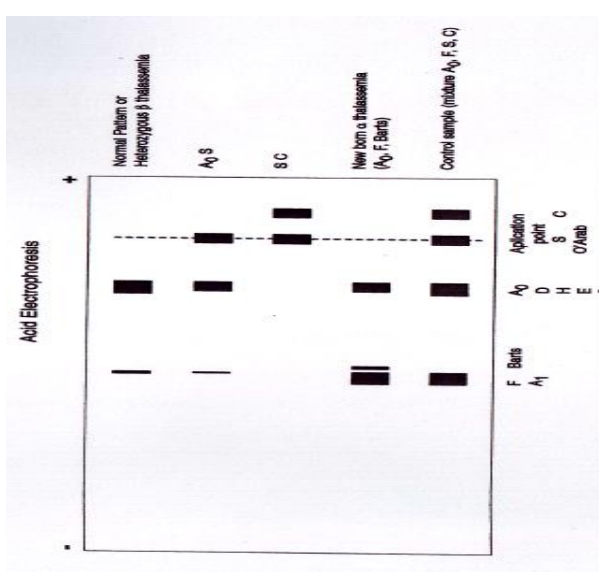
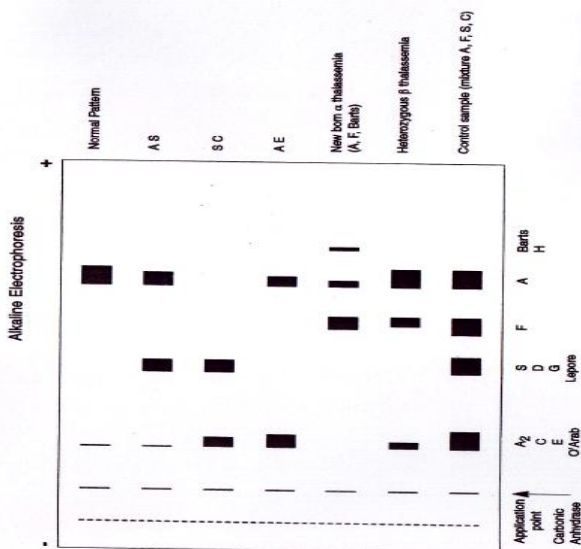
Kits: Hydragel Hb Ácido 7/15

Gel de Agarosa: 15 g/L ; tampón ácido
pH 6.0 ± 0.1

➤ Permite la **diferenciación** y **confirmación** de las hemoglobinas más comunes de acuerdo a su movilidad (D, E, H, Bart, O ' Arabica y distintas talasemias)

3er Paso

Comparación y confirmación de bandas electroforéticas obtenidas en ambos geles.



OBJETIVO



Describir los resultados obtenidos en la aplicación del protocolo para la confirmación de talasemias en gel de agarosa a pH ácido.

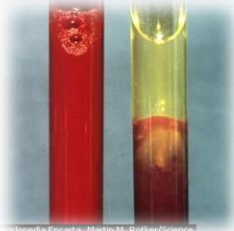


MATERIALES Y MÉTODOS



Muestras biológicas: Sangre total + EDTA₂

Pacientes: 158 sujetos portadores de Sicklemia y con trastornos hematológicos del programa de hemoglobinopatias periodo 2013-2019



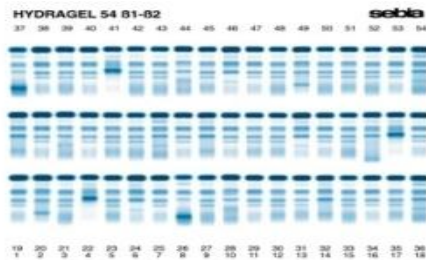
Temperatura: 4-8 °C

Frascos: Viales Eppendorf(2mL), Vacutainer(7mL)



Lavado de glóbulos rojos:
Solución salina (NaCl 0,9%)

Electroforesis de Hb: tecnología HYDRAYS en geles alcalinos y ácidos

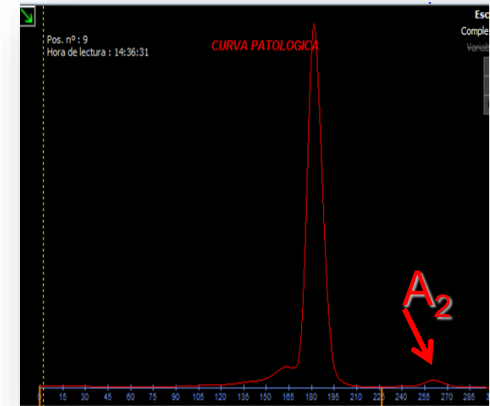
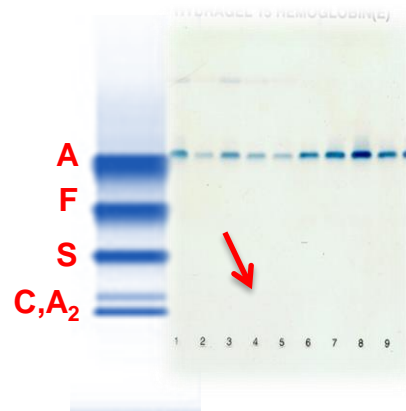


RESULTADOS

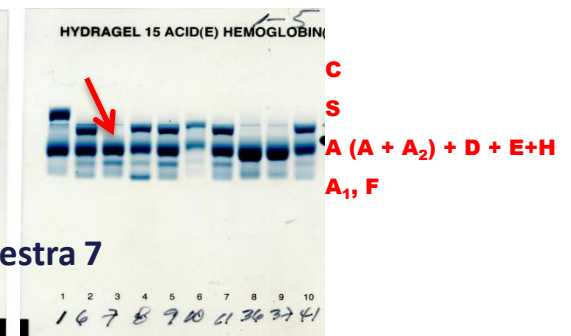
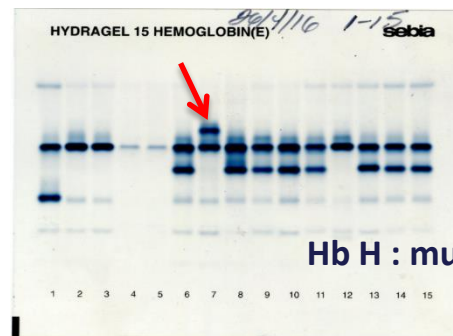


Se detectaron PACIENTES:

- 10 Portadores de Talasemia Alfa con Hb A₂ disminuida (<1,8%):
Delección de dos genes



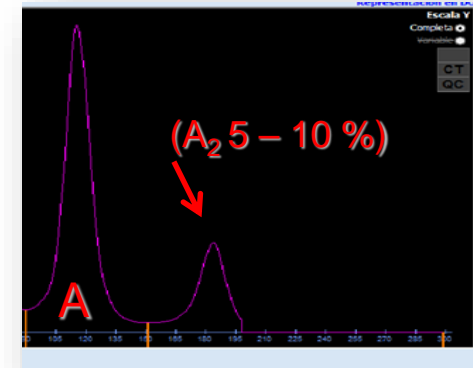
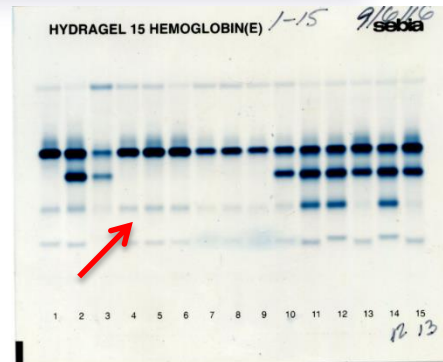
- 9 Talasemias Alfa con Hb H
Delección de tres genes



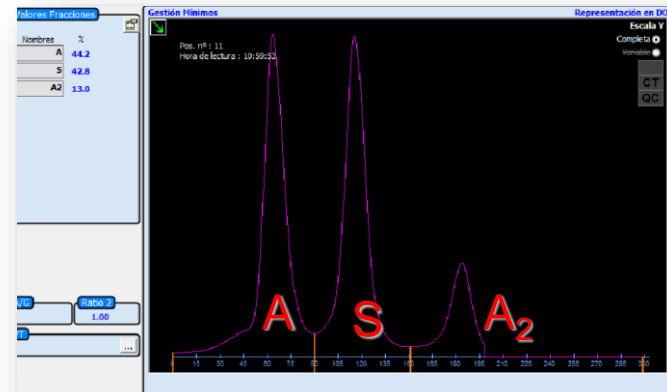
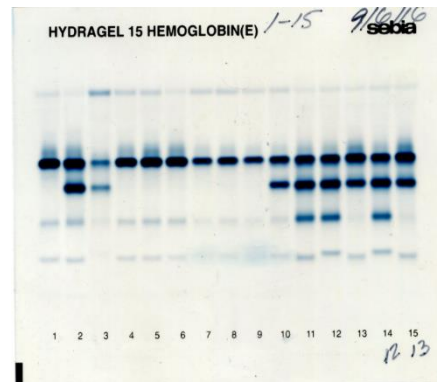
RESULTADOS



- 57 Talasemias Beta con Hb A₂ aumentada (>3,5%):
β talasemia Menor heterocigota



- 9 Talasemias Beta :
S/B⁺

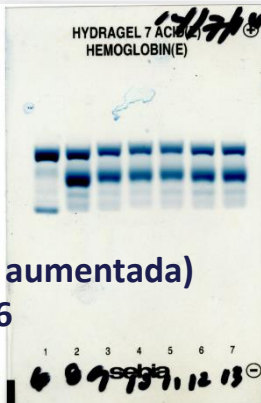
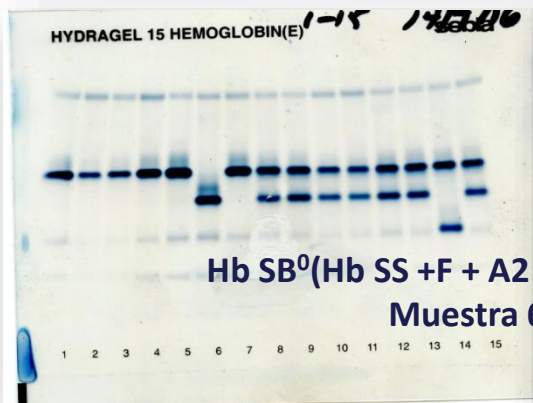


Hb SB⁺(Hb A₂ aumentada 5-12%)
Muestras 11-12

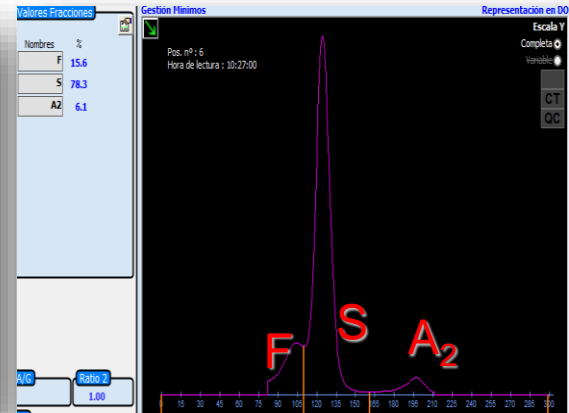
RESULTADOS



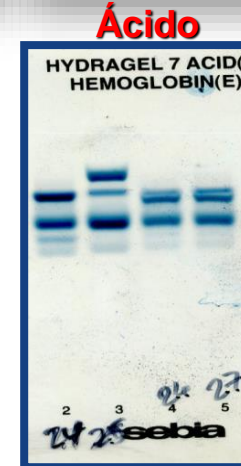
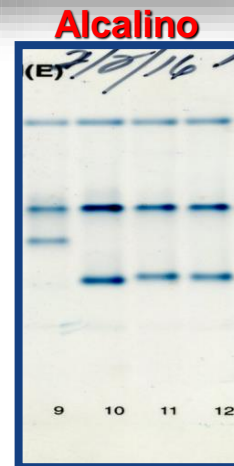
- ❑ 1 Talasemia Beta:1 S/B⁰



Hb SB⁰(Hb SS +F + A2 aumentada)
Muestra 6



- ❑ 11 Hemoglobinopatías: Hb A/ O árabica
- ❑ 1 Hemoglobinopatía: Hb S/O árabica

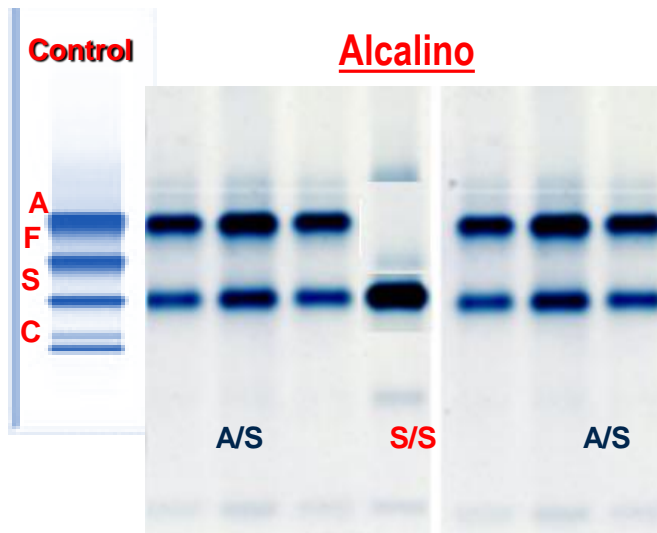


S C O O
A A A A

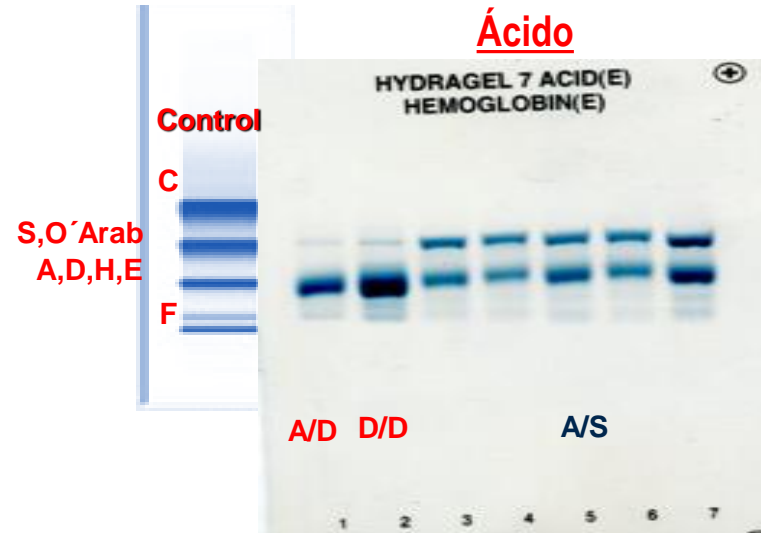
RESULTADOS



- ❑ 42 Hemoglobinopatías: Hb A/D
- ❑ 3 Hemoglobinopatías: Hb D/D



Forma Homocigota:
Anemia muy ligera
Hb A fracción ausencia
Hb D fracción 100 %



Forma Heterocigota:
(asintomática, detectada por electroforesis)
Hb A fracción 65 – 70 %
Hb D fracción 30 – 35 %

IMPACTO DE LOS RESULTADOS



- ❖ La aplicación de este protocolo ha permitido identificar y confirmar la presencia de las variantes de hemoglobinas poco frecuentes no detectadas en el Programa de Pesquisa Prenatal de Sicklemia por el ensayo en condiciones alcalinas.
- ❖ Se elevó la certeza diagnóstica de varias patologías hematológicas, obteniendo resultados concluyentes en el diagnóstico de las hemoglobinopatías.
- ❖ La aplicación de este protocolo abrió un nuevo camino en las investigaciones y los servicios para la búsqueda de diferentes variantes talasémicas en el Programa Prenatal de Sicklemia.



IMPACTO DE LOS RESULTADOS



- ❖ Se puede utilizar como otra herramienta analítica sumamente efectiva que puede apoyar muchos diagnósticos de enfermedades genéticas asociadas a patologías de anemias, desnutrición, retraso del crecimiento, etc.
- ❖ El método por electroforesis es rápido, sencillo y de bajo costo económico considerando que esta tecnología está implementada en todo nuestro país.
- ❖ La experiencia a partir de los resultados permitió fortalecer los protocolos cubanos empleados en los Centros Provinciales de Genética, ahorro de los recursos materiales, empleo adecuado de reactivos y equipamientos y por tanto una disminución económica en todo el Programa de Pesquisa Prenatal de Sicklemia en el país.



...si quisiéramos definir lo que ha sido el foro (Fórum), yo diría que es un ejemplo y un símbolo de nuestra era."

Fidel Castro Ruz

