



## Identificación de Hemoglobinopatías por electroforesis capilar

 16 min.



En este artículo se manifiesta la importancia de un método diagnóstico debidamente controlado en la determinación de enfermedades genéticas tales como las hemoglobinopatías. Se trata en este caso, de la importancia de la Electroforesis de Hemoglobina en la investigación y vigilancia de pacientes portadores.



Raquel Osatinsky \*, Claudio Valdata \*\*

Área Proteínas, Hemoglobinas  
MANLAB, Diagnóstico Bioquímico,  
Dpto. de Docencia e Investigación

\*Bioquímica Jefa de Área Proteínas-Hemoglobinas

\*\* Bioquímico Director Técnico de MANLAB



E-mail: [docencia@emanlab.com.ar](mailto:docencia@emanlab.com.ar)



### Introducción

Un informe de la Secretaría de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de mayo de 2006, referido a las hemoglobinopatías, (entre las que se destacan las talasemias y la anemia drepanocítica), las define como trastornos hereditarios.

Aproximadamente, un 5% de la población mundial es portadora de un gen de la hemoglobina potencialmente patológico, es decir, personas sanas que han heredado sólo un gen mutante de uno de los progenitores.

Cada año nacen en todo el mundo aproximadamente 300.000 niños con síndromes talasémicos (30%) o drepanocíticos (70%). A nivel mundial, el porcentaje de portadores de talasemia es mayor que el de portadores de drepanocitosis, pero debido a la mayor frecuencia del gen de la anemia drepanocítica en algunas regiones, el número de recién nacidos afectados por esta enfermedad es mayor que el de los afectados por talasemias.

Algunos genes de hemoglobinopatías como las alfa y beta talasemias y la hemoglobina S, causan enfermedad, pero otras como las hemoglobinas E y C presentan manifestaciones clínicas graves cuando se combinan con alguno de los genes del primer grupo. Los portadores sanos pueden llegar al 25% en algunas poblaciones del África meridional.

La beta talasemia es la hemoglobinopatía más frecuente en la cuenca mediterránea, Medio Oriente y Asia. La alfa talasemia es frecuente en Asia sudoriental y la anemia drepanocítica predomina en África. El aumento mundial de las migraciones ha introducido las hemoglobinopatías en muchas zonas donde originariamente no eran endémicas. En los Estados Unidos de América, el 10% de la población puede presentar una anemia drepanocítica, en Europa noroccidental entre un 2% y un 9%

**MANLAB®**

de la población tienen riesgo de ser portadores o padecer enfermedad producida por hemoglobinopatías. En algunos países de Asia sudoriental, hasta un 40% de la población puede ser portadora de mutaciones importantes.

Estudios realizados en nuestro país demostraron en 1963 que el 4% de la población eran portadores de beta talasemias. En 2003, en estudios realizados por autores argentinos este porcentaje se elevó a un 24,4% con la presencia de un 5% de portadores de hemoglobinopatías S, C y Lepore. En México, las encuestas practicadas en algunas zonas de las costas del Golfo y del Pacífico, han descubierto sitios con alta prevalencia de portadores de hemoglobinopatía S y de beta talasemia.

Las anomalías de la hemoglobina pueden ser consecuencia de una variación estructural de la molécula (cambio de un aminoácido por otro en una de las cadenas de la globina), a las que se las conoce como hemoglobinopatías y son cualitativas o de la síntesis de una o más de las cadenas de globina, las talasemias, que son cuantitativas.

El desarrollo de nuevas metodologías y los estudios epidemiológicos realizados en países como Estados Unidos de América, Brasil, México, algunos países europeos como Italia, Grecia, países de Medio Oriente, Asia y África han alertado sobre la necesidad de estudiar en forma más metódica estas patologías. Se han desarrollado nuevos tratamientos para los que presentan formas severas que mejoran su estado de salud y su calidad de vida.

# Usted sabe elegir

Con Immulite®, Immulite® 1000 e Immulite® 2000, Siemens incorpora nuevos integrantes a su familia de productos para Inmunoensayos. Ahora, cuando Usted elija la calidad, confiabilidad y amplitud de menú de los sistemas y reactivos de la línea Immulite®, estará eligiendo a Siemens.



Siemens Medical Solutions Diagnostics  
[www.siemens.com/diagnostics](http://www.siemens.com/diagnostics) · (011) 4738 7424

**SIEMENS**  
medical

La prevención de la talasemia se basa en la identificación de los individuos en riesgo mediante programas de detección de los portadores, y en la información adecuada sobre el riesgo y las posibilidades de reducirlo.

La beta talasemia tiene una característica única: los portadores sanos se pueden identificar con simples análisis de sangre, baratos y exactos.

La investigación y la vigilancia son importantes para planificar y evaluar las intervenciones apropiadas. No hay datos suficientes sobre la epidemiología de las hemoglobinopatías, la demanda, calidad y resultados de los estudios realizados en los países en desarrollo. Los sistemas de registros y bases de datos eficientes y la inversión continua en la investigación de las hemoglobinopatías son fundamentales para el éxito de las tareas de salud pública, especialmente en los entornos de escasos recursos.

Tanto en los países desarrollados como en los países en desarrollo, la OMS sigue cooperando con la Federación Internacional de Talasemias, una organización no gubernamental con la que tiene relaciones oficiales. La colaboración se ha centrado en mejorar el diagnóstico, la prevención y el manejo clínico de la enfermedad, así como en la educación de la población y de los profesionales de la salud.

Los nuevos enfoques de los estudios epidemiológicos, de tratamiento y pronóstico de las talasemias han producido un gran cambio en la forma de encarar el problema, dado que los resultados obtenidos han demostrado que esta patología tendrá un gran impacto sobre los sistemas de salud mundiales en los próximos años.

A la alfa talasemia se la considera actualmente como un grupo de enfermedades heterogéneas que incluye a etnias muy variadas, estos desórdenes son más comunes que la clásica beta talasemia en muchas regiones del planeta.

### Electroforesis de hemoglobina

¿Por qué se solicita una electroforesis de Hb?. Generalmente el pedido está indicado por un médico hematólogo y/o por un pediatra, cuando es consultado por anemias de tipo crónico que no corrigen con administración de hierro, o al examinar resultados obtenidos de hemogramas donde se menciona microcitosis, hipocromía, leptocitosis y los índices hematimétricos alterados. En los últimos años, con el uso corriente de contadores hematológicos automatizados, se hicieron más evidentes las alteraciones de éstos parámetros bioquímicos. Al realizar la anamnesis a los pacientes se puede conocer los antecedentes familiares. Las corrientes migratorias, así como la mezcla de etnias, hacen factibles el hallazgo de portadores de genes talasémicos y/o de hemoglobinopatías.

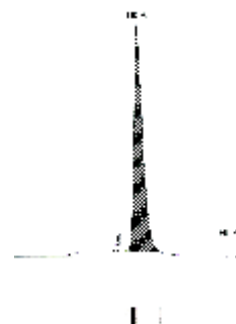
¿Qué determinación debe realizar el laboratorio en este caso?. Lo correcto es tener antecedentes del paciente como ser: edad, origen geográfico, datos del hemograma, reticulocitos, y fundamentalmente frotis de sangre periférica para examinar la serie roja.

Si consideramos textualmente lo que expresa el pedido : Electroforesis de Hb, deberíamos remitirnos a realizar nada más que eso e informar la presencia del tipo de Hb encontrada. Lo correcto sería solicitar un Estudio de una hemoglobinopatía que debería comprender: la electroforesis de Hb, con la valoración de la Hb A2 y de la HbF. En forma complementaria, deberían estudiarse los parámetros relacionados con el metabolismo del hierro (Ferremia, % de saturación de la transferrina y Ferritina).

Como es por todos conocidos, el laboratorio debe realizar lo solicitado por el médico y en todo caso, luego, sugerir otras determinaciones.



Figura 1: Electroforesis de Hb normal; 1 corresponde a HbA desnaturalizada.



Electroforesis capilar de hemoglobina

| Fracciones | %    |
|------------|------|
| 1          | 0.5  |
| Hb A       | 96.6 |
| Hb A2      | 2.9  |

Los métodos para la realización de la electroforesis de la Hb pueden ser manuales, semi o totalmente automatizados, de acuerdo al volumen y a la complejidad del laboratorio.

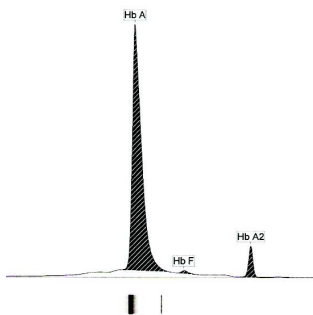
En nuestro laboratorio trabajamos con electroforesis capilar, empleando el Capillarys 2 de Sebia (totalmente automatizado), previamente se realizaban las corridas en gel de agarosa con el Hidrasys LC de Sebia (semiautomatizado). Ambas metodologías son válidas y en algunos casos complementarias. Ante el hallazgo de Hb anómalas deben ser confirmadas con determinaciones especiales dependiendo éstas del tipo de Hb que se supone haber encontrado (Hb S, Hb H, Hb C; E, Lepore ;D Punjab; algunas Hb inestables y también variantes de HbA). Se debe estudiar al grupo familiar ya que se trata de una alteración genética (padres, hijos, abuelos).

En el laboratorio bioquímico clínico no siempre es posible hacerlo, dado que una vez realizado el primer diagnóstico, el paciente suele ser derivado al médico especialista , en este caso un hematólogo. En algunos casos, si el sistema de salud lo permite, y el laboratorio es confiable para el médico tratante el grupo familiar es

estudiado y controlado en el mismo laboratorio.



Figura 2: Electroforesis que presenta HbF dentro de los valores de referencia y HbA2 aumentada

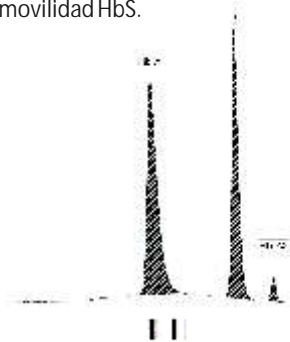


Electroforesis capilar de hemoglobina

| Fraciones | %    |             |
|-----------|------|-------------|
| Hb A      | 93.7 | 96.8 - 97.8 |
| Hb F      | 0.8  | =<0.5       |
| Hb A2     | 5.5  | 2.2 - 3.2   |



Figura 3: Electroforesis de Hb que presenta una Hb anómala (2), variante probable en esa movilidad HbS.



Electroforesis capilar de hemoglobina

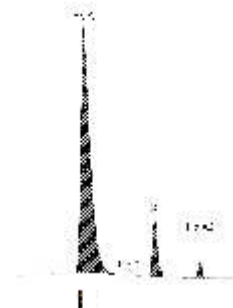
| Fraciones | %    |
|-----------|------|
| Hb A      | 54.4 |
| 2         | 42.4 |
| Hb A2     | 3.2  |

La electroforesis capilar, es un método muy sensible y permite la separación y cuantificación de las fracciones antes

mencionadas, así como ante la aparición de una Hb anómala determinar las probables variantes que corren en esa movilidad.



Figura 4: Electroforesis de Hb que presenta HbF y HbA2 dentro de los valores de referencia y una Hb anómala (3), variantes probables en esa movilidad Hb Lepore , Hb D-Punjab.



Electroforesis capilar de hemoglobina

| Fraciones | %    |
|-----------|------|
| Hb A      | 85.3 |

# GESTOR DE VALORES E INICIATIVAS

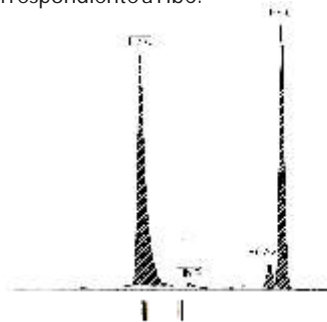
Trabajamos para su Laboratorio. Trabajamos para su paciente.

|      |      |
|------|------|
| HbF  | 0.4  |
| 3    | 11.7 |
| HbA2 | 2.6  |

Es el único método que separa la Hb C de la Hb E y de la HbA2. Éstas corren electroforéticamente en agarosa en la misma movilidad de manera que es imposible cuantificar la HbA2, lo mismo sucede si se emplean minicolumnas cromatográficas o HPLC.



Figura 5.- Electroforesis de Hb que presenta HbF dentro de los valores de referencia, HbA2 aumenta y presencia de Hb anómala correspondiente a HbC.



Electroforesis capilar de hemoglobina

| Fraciones | %    |
|-----------|------|
| HbA       | 57.7 |
| HbF       | 1.0  |
| HbA2      | 4.1  |
| HbC       | 37.2 |

Desde junio de 2007 cuando comenzamos a informar todas las electroforesis de Hb por el método capilar, hasta octubre de 2008, se han analizado e informado más de 7.000 corridas de Hb. Se han encontrado hemoglobinas anómalas como ser HbS homocigota, heterocigotas para HbA+S; HbA+Lepore; Hb A+C; HbA+H. Las alteraciones más frecuentes son las relacionadas con el síndrome talasémico que presentan la HbA2 elevada, a veces Hb F elevada y en ocasiones ambas elevadas.

#### Conclusiones

El estudio de Hb es una determinación que debe realizarse con los métodos adecuados. Los resultados cuantitativos son

de vital importancia para diagnosticar porta-dores de alguna enfermedad genética, sobre todo en los casos de talasemias. El nivel de la HbA2 (VR 2-3,5%) es el parámetro que le indica al médico si el paciente que tiene puede o no ser portador de una enfermedad genética. Los valores límites de 3,5 a 3,6% deben tener gran precisión, el método debe estar perfectamente controlado y tener reproducibilidad de los resultados.

La validación de los resultados deben estar controlados por profesionales con experiencia en el tema. Tratar en lo posible de recabar la información necesaria sobre el paciente y en el caso de presencia de Hb anómalas hacer todas las pruebas complementarias para confirmar el tipo de hemoglobinopatía. Hacer el estudio familiar.

Hemos encontrado dos pacientes con variantes de HbA totalmente asintomáticos (que fueron corroborados enviando las muestras a Sebia Francia).

En nuestra experiencia la electroforesis de Hb por el método de capilaridad (con el Capillarys 2 de Sebia), ha brindado resultados de excelencia, con mucha sensibilidad.

#### Bibliografía

- 1 - Huisman THJ, Carver MFN, Efremov GD. 1998. Human hemoglobin variants, 2º edn. Sickle Cell Anemia Foundation. Augusta, Georgia.
- 2 - Thein SL 2000. Beta Thalassaemia. Fifth Congress of the European Haematology Association. Educational Book ( Ed. AR Green) Birmingham p.132-137
- 3 - Phelan L, Bain BJ, Roper D et. al. 1999. An analysis of relative cost and potential benefit of different policies for antenatal screening for beta thalassaemia trait and variant haemoglobins. Journal of Clinical Pathology 51: 697-700
- 4 - Wild BJ, and Bain BJ. Dacie and Lewis Practical Haematology-2006- Investigation of abnormal haemoglobins and thalassaemia -10th Ed.Churchill Livingston- Elsevier- p.271-310
- 5 - Osatinsky R, Joseph A. 2003- Incidencia de beta talasemia en una población de pacientes con anemia crónica. XVI Congreso Argentino de Hematología ( Poster recomendado por el comité Científico Evaluador)- Mar del Plata . Argentina 31 de Octubre- 3 de Noviembre

- 6 - Dominioni A, Ducco D, Osatinsky R. 2002- Hallazgo casual de Hb C homocigota en adulto aparentemente normal: estudio familiar- 65º Congreso Argentino de Bioquímica. Octubre 13-16 Ciudad de Bs. As., Argentina
- 7 - Lukens JN, 2004- Abnormal hemoglobins- Wintrobe's clinical Hematology 11º Ed. p. 1247-1262
- 8 - Premawarthena A, Fisher CA, Wheathall DJ et al.- 2005 A novel molecular basis for beta thalassaemia intermedia poses new questions about its pathophysiology. Blood 106(9): 3251-3255
- 9 - Kazaxian HH and Boehem CD- 1988- Molecular basis and prenatal diagnosis of beta thalassaemia- Blood 72(4) 1107-1116
- 10 - Cohen Ar, Galanello R, Pennell DJ, Cunningham HJ and Vichinsky E- 2004 Thalassaemia- Hematology American Society of Hematology- p.14-34
- 11 - Fathallah A, Sutton M, and Athew GT- 2005- Pharmacological induction of fetal hemoglobin: why haven't we been more successful in thalassaemia? Am.NYAcadSci. 1054: 228-237
- 12 - Rund D and Rachmilewitz E- 2005- Beta thalassaemia- NEngJMed. 353: 1115-46
- 13 - Higgs DR, Thien SL, Wood WG. 2001- The molecular pathology of the thalassaemias- In Weatherall DJ ed. Blackwell Science- The thalassaemia syndromes 4th Ed Oxfor England p. 133-91
- 14 - Agustiniokis M et al. 1998- Global epidemiology of hemoglobin disorders. Am NY Acad Sci. 850: 25-9
- 15 - Organización Mundial de la Salud - 2006 Consejo Ejecutivo- Reunión 118º- Talasemia y otras hemoglobinopatías- 11 de Mayo
- 16 - Tomé Alves R, Marchi Salvador D, Bonini Domingos CR, et al.- 2000- Hemoglobinas AS/ Alfa talasemias- importancia diagnóstica- Rev Bras Hematol Hemoter 22(3)
- 17 - Weatherall DJ, Clegg JB.-2001-Inherited haemoglobin disorders: an increasing global health problem. Bull World Health Orga. 79: 704-712.
- 18 - Vichinsky EP, -2000- Report of proceedings: International conference on E-B thalassaemia. J Pediatr Hematol Oncol 22: 550-601
- 19 - Rees DC.-Hemoglobin F and hemoglobin E/beta thalassaemia. J Pediatr Hematol Oncol 22: 567-572
- 20 -Fucharoen S, Ketvichit P,Pootrakul P, Siritanaratkul N, et. al. 2000- clinical manifestation of beta thalassaemia/ hemoglobin E disease. J Pediatr Hematol Oncol 22: 552-557
- 21 -Boemer F, Ketelslegers O, et. Al.- Newborn screening for Sickle Cell Disease, using tandem mass spectrometry.- 2008 Clin.Chem. ;54 (12) 2036- 2041.
- 22 .- Schechter alan N.- Hemoglobin research and the origins of molecular medicine.- Review. Blood 2008; 112: 3927-3938

