



UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

MAESTRÍA DE BIOQUÍMICA CLÍNICA

“TRABAJO DE TITULACIÓN EXAMEN COMPLEXIVO”

PARA LA OBTENCIÓN DEL GRADO DE MAGISTER EN BIOQUÍMICA CLÍNICA

**“HEMOGLOBINOPATÍAS DETECTADAS EN MUESTRAS DE SANGRE DEL
CORDÓN UMBILICAL EN LOS RECIEN NACIDOS
AFROCOLOMBIANOS”**

AUTOR: BQF. VERÓNICA DEL PILAR CANTUÑI CARPIO

TUTORA: Dra. AÍDA CASTRO POSLIGUA. MSC.

GUAYAQUIL – ECUADOR

SEPTIEMBRE 2016

 Presidencia de la República del Ecuador		 Plan Nacional de Ciencia, Tecnología, Innovación y Saberes		 SENESCYT Secretaría Nacional de Educación Superior, Ciencia, Tecnología e Innovación	
REPOSITORIO NACIONAL EN CIENCIAS Y TECNOLOGÍA					
FICHA DE REGISTRO ESTUDIO DE CASO EXAMEN COMPLEXIVO					
TÍTULO: HEMOGLOBINOPATÍAS DETECTADAS EN MUESTRAS DE SANGRE DEL CORDÓN UMBILICAL EN LOS RECIÉN NACIDOS AFROCOLOMBIANOS					
AUTORES: BQF. VERÓNICA DEL PILAR CANTUÑI CARPIO			REVISORES: DRA. AIDA CASTRO POSLIGUA MSC.		
INSTITUCIÓN: UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL			FACULTAD: FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS		
PROGRAMA: MAESTRÍA DE BIOQUÍMICA CLÍNICA					
FECHA DE PUBLICACIÓN:			NO. DE PÁGS:		
ÁREA TEMÁTICA: LABORATORIO CLÍNICO					
PALABRAS CLAVES: Hemoglobinopatías, cordón umbilical, electroforesis capilar, electroforesis de isoelectroenfoque.					
RESUMEN: Se realizó un estudio en el que se diagnosticó las Hemoglobinopatías en recién nacidos en seis departamentos de Colombia cuya prevalencia de pobladores afrocolombianos es relativamente alta; cuyo fin es descubrir la utilidad de muestras de sangre del cordón umbilical, las cuales fueron analizadas por pruebas de laboratorio usando el método de electroforesis capilar y de isoelectroenfoque para ser analizadas, evaluadas y así determinar la utilidad de este tipo de muestras. Siendo un estudio de tipo Cualitativo – cuantitativo, Descriptivo y prospectivo que permitió analizar muestras de sangre del cordón umbilical en el recién nacido, las mismas que fueron tomadas usando papel Whatman 903 y sometidas a dos métodos de análisis por electroforesis: capilar y de isoelectroenfoque, los cuales son patrones de referencia para la detección de las modificaciones genéticas de la hemoglobina, teniendo en cuenta que se descartan las muestras que no cumplieren con la calidad esperada al tener más de tres meses. Los resultados obtenidos fueron que de 3.244 muestras de sangre seca del cordón umbilical se encontraron 288 muestras con variantes en la hemoglobina, por lo que se concluye que esta patología puede ser diagnosticada tempranamente utilizando las muestras de sangre seca del cordón umbilical siempre que éstas sean valoradas y analizadas cumpliendo requisitos de calidad.					
N° DE REGISTRO(en base de datos):		N° DE CLASIFICACIÓN: N°			
DIRECCIÓN URL (estudio de caso en la web)		http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-24482012000300003			
ADJUNTO URL (estudio de caso en la web):					
ADJUNTO PDF:		☒ SI		☐ NO	
CONTACTO CON AUTORES/ES:		Teléfono: 09974414449		E-mail: aida.castrop@ug.edu.ec	
CONTACTO EN LA INSTITUCIÓN:		Nombre: UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL			
		Teléfono: (04) 228-4505			

CERTIFICADO DE LA TUTORA

En mi calidad de tutora de la estudiante Verónica del Pilar Cantuñi Carpio, del Programa de Maestría en Bioquímica Clínica, nombrado por la Decana de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil. CERTIFICO: que el estudio de caso del examen complexivo titulado “**Hemoglobinopatías detectadas en muestras de sangre del cordón umbilical en los recién nacidos afrocolombianos**”, en opción al grado académico de Magíster en Bioquímica Clínica, cumple con los requisitos académicos, científicos y formales que establece el Reglamento aprobado para tal efecto.

Atentamente

MSC. AÍDA CASTRO POSLIGUA
TUTORA

Guayaquil, 20 de Septiembre de 2016

DEDICATORIA

Este tema de estudio se la dedico a Dios quien me ha guiado por el camino del bien, me ha dado las fuerzas necesarias para no rendirme ante los obstáculos, y enseñándome a enfrentar las adversidades.

A mis padres por su gran apoyo, cada consejo, comprensión, amor, paciencia, ayuda en los buenos y malos momentos, me han dado todo lo que soy como persona mis valores, mis principios, mi carácter, mi empeño, mi perseverancia, mi coraje para conseguir mis objetivos.

Verónica

AGRADECIMIENTO

La virtud del ser humano es saber agradecer, y hoy quiero agradecer principalmente al Ser Divino, Dios, que permitió estar en este lugar y cumplir una meta más de mi vida profesional.

A mis padres por haberme proporcionado la mejor educación y lecciones de vida, por haber creído en mí y enseñarme a valorar todo lo que tengo, y sobre todo por apoyarme en el cumplimiento de esta nueva meta.

A la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil por permitirme formar parte de su formación académica y cumplir una de mis metas.

A la M.Sc. Aída Castro Posligua, tutora del tema de estudio, por haberme proporcionado sus conocimientos con esfuerzo y dedicación, su experiencia, su motivación ya que ha logrado en mí culminar con éxito este trabajo.

Y a mis grandes amigos que estuvieron apoyándome siempre y nunca me han abandonado, a quienes me acompañaron en esta aventura y siempre se quedarán en mis recuerdos.

DECLARACIÓN EXPRESA

“La responsabilidad del contenido de este trabajo de Titulación de Estudio de Caso, me corresponden exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL”

FIRMA

BQF. VERÓNICA DEL PILAR CANTUÑI CARPIO

ABREVIATURAS

ADN	Ácido Desoxirribonucleico
CDIU	Categoría, Dimensión, Instrumento y Unidades de Análisis
CE	Electroforesis Capilar
DANE	Departamento Administrativo Nacional de Estadística
EDTA	Acidoetilendiaminotetraacético
Hb	Hemoglobina
Hb A	Hemoglobina A
Hb C	Hemoglobina C
Hb E	Hemoglobina E
Hb S	Hemoglobina S
Hb SC	Hemoglobina SC
HPFH	Persistencia Hereditaria de Hemoglobina Fetal
HPLC	Cromatografía Líquida de Alta Presión
INS	Instituto Nacional de Salud
MSP	Ministerio de Salud Pública
OMS	Organización Mundial de la Salud

TABLA DE CONTENIDOS

PORTADA	i
REPOSITORIO	ii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO	v
DECLARACION EXPRESA	vi
ABREVIATURAS	vii
TABLA DE CONTENIDOS	viii
INDICE DE FIGURAS	x
INDICE DE TABLAS	xi
RESUMEN	xii
ABSTRACT	xiii
INTRODUCCIÓN	1
Desarrollo	3
1. Marco teórico	3
1.1 Teorías Generales	3
1.2 Teorías Sustantivas	4
1.3 Referentes empíricos	4
2. Marco metodológico	11
2.1 Metodología	11
2.2 Método de estudio de casos	11
2.3 Premisa	12
2.4 Cuadro de Categorías, Dimensiones, Instrumentos y Unidades de Análisis (CDIU)	12
2.5 Descripción de las unidades	13
2.6 Gestión de datos	14
2.7 Criterios éticos de la Investigación	15
3. Resultados	16
3.1 Antecedentes de la unidad de análisis	16
3.2 Presentación de los Resultados	16
4. Discusión	17
4.1 Contrastación empírica	17
4.2 Limitaciones	18
4.3 Líneas de Investigación	18

4.4 Aspectos novedoso del estudio de caso	18
5. Propuesta	19
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	20
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21
ANEXOS	23

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N°1	Molécula de hemoglobina	25
FIGURA N°2	Esquema hemoglobinopatía	26
FIGURA N°3	Acción de la electroforesis	26
FIGURA N°4	Patrones electroforéticos	27
FIGURA N° 5	Identificación de hemoglobina de bart	28

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1.	Descripción de las muestras recibidas según género y departamento de origen	23
TABLA 2.	Distribución de muestras según método de análisis y clase de resultado	23
TABLA 3.	Distribución de hemoglobinas anormales encontradas por departamento	24
TABLA 4.	Distribución de muestras sin procesar de acuerdo con la característica de calidad de la muestra de sangre seca	24

RESUMEN

Las Hemoglobinopatías son desórdenes genéticos prevalentes en los seres humanos de población afrodescendientes negra, cuya detección en recién nacidos juega un papel muy importante ya que alrededor de un 5% de la población mundial es portadora de estos genes causantes de esta patología, considerándose que cada año nacen un cientos de miles de niños con hemoglobinopatías graves. En nuestro país, como antecedente mencionaremos al trabajo realizado por Guevara, Chico y Calvopiña (1998) quienes analizaron muestras de sangre en individuos de afrocolombianos, además que Rosero- Bermúdez, (2012) en Colombia realizaron un estudio del Análisis de Hemoglobinopatías en regiones afrocolombianas usando muestras de sangre seca de cordón umbilical que tenía como objetivo realizar la identificación temprana de hemoglobinopatías en muestra de sangre seca de cordón umbilical. Siendo un estudio de tipo Cualitativo – cuantitativo, Descriptivo y prospectivo que permitió analizar muestras de sangre del cordón umbilical en el recién nacido, las mismas que fueron tomadas usando papel Whattman 903 y sometidas a dos métodos de análisis por electroforesis: capilar y de isoelectroenfoque, los cuales son patrones de referencia para la detección de las modificaciones genéticas de la hemoglobina, teniendo en cuenta que se descarta las muestras que no cumplieren con la calidad esperada al tener más de tres meses. Los resultados obtenidos fueron que de 3.244 muestras de sangre seca del cordón umbilical se encontraron 288 muestras con variantes en la hemoglobina, por lo que se concluye que esta patología puede ser diagnosticada tempranamente utilizando las muestras de sangre seca del cordón umbilical siempre que éstas sean valoradas y analizadas cumpliendo requisitos de calidad.

Palabras Clave: Hemoglobinopatías, cordón umbilical, electroforesis capilar, electroforesis de isoelectroenfoque.

ABSTRACT

The hemoglobinopathies are genetic disorders prevalent in black human beings. The detection in newborns is important because 5% of world population carries these genes that cause this pathology. Considering that every year one hundred thousand children born with severe hemoglobinopathies. In our country, as background we can mention that the research made by Guenaram Chico and Calvopiña (1998) that analyzed blood samples from black people. In addition, Rosero – Bermudez (2012) conducted a research about the Analysis of hemoglobinopathies in Afro-Colombian areas using blood samples from the umbilical cord. This was a qualitative and quantitative study which allows analyzed the blood samples of newborn. These were taken using Whattman 903 pare and they were subjected to two methods of analysis by electrophoresis: capillary and isoelectric focusing, that are reference standards for the detection of genetic alterations of the hemoglobin. Taking into account that samples that do not comply with the expected quality, which must not have more than three months, are excluded. The achieved results were that from 3.244 dry blood samples from the umbilical cord, 288 samples with hemoglobin variables were found for this reason we can concluded that this pathology can be detected early using the dry blood samples from the umbilical cord when these are recognized and analyzed fulfilling quality requirements.

Keywords: hemoglobinopathies, umbilical cord, electrophoresis capillary, electrophoresis of isoelectric focusing.

INTRODUCCIÓN

Según la OMS (2011) “Las hemoglobinopatías están extendidas por todo el mundo, cerca del 5% de la población mundial es portadora de genes causantes de hemoglobinopatías. Cada año nacen aproximadamente 300.000 niños con hemoglobinopatías importantes”. En Ecuador, la media de la población ecuatoriana tiene una proporción de genes: europeos 43%, amerindios 40%, afro 10% y otros 7%, demostrando que hay un alto porcentaje de la población afro con prevalencia a presentar esta patología. De allí que, resulta de gran importancia realizar el diagnóstico temprano de las anomalías de la hemoglobina, debido a un elevado índice de letalidad (Paz y Miño, 2016)

El método de electroforesis e isoelectroenfoque permiten el diagnóstico de las Hemoglobinopatías usando muestras de sangre obtenidas del cordón umbilical que además proporciona la información del tamizaje neonatal de hipotiroidismo congénito rutinario.

FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Cómo se detecta Hemoglobinopatías en muestras de sangre de cordón umbilical en recién nacidos?

JUSTIFICACIÓN

El diagnosticar patologías genéticas de la hemoglobina es muy importante debido a que la población con mayor prevalencia es la afrodescendiente, con lo que es necesario tener los conocimientos evaluadores y clínicos para tratar de manera oportuna y acertada

Gran parte de la información obtenida de las diferentes hemoglobinopatías proviene de otros países, ya que en Ecuador esta patología no ha sido investigada. Es así, que considerando que la población afroecuatoriana constituye un factor de riesgo con un alto índice de prevalencia, por tanto, se pretende aportar al diagnóstico de esta enfermedad con el uso de una sola muestra de sangre del cordón umbilical y así reducir la incidencia al establecer un tratamiento y consejo preventivo.

Objeto de estudio

Las Hemoglobinopatías en muestras de sangre de cordón umbilical.

Campo de Investigación

Factores genéticos determinantes que influyen en la incidencia de Hemoglobinopatías oportunamente en muestras de sangre del cordón umbilical de los recién nacidos afrocolombianos para establecer un tratamiento y consejo preventivo.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Detectar Hemoglobinopatías en muestras de sangre de cordón umbilical en Recién Nacidos de poblaciones afrocolombianas para establecer un tratamiento y consejo preventivo.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Establecer la incidencia de Hemoglobinopatías en la población afrocolombiana.
2. Identificar el tipo de Hemoglobinopatías más frecuente en los recién nacidos afrocolombianos.
3. Identificar los factores de riesgos que inciden en las Hemoglobinopatías en la población seleccionada.

DESARROLLO

1. MARCO TEÓRICO

1.1 TEORÍAS GENERALES

Según la OMS, las enfermedades hereditarias de carácter letal más común en el mundo son la anemia falciforme y la talasemia mayor. Al menos 240 millones de personas son homocigotos para estas dos principales hemoglobinopatías y nacen anualmente cerca de 200 mil homocigotos letalmente afectados. La actual prevalencia en recién nacidos varía de una región a otra del mundo. En África tropical del 20 al 25% de la población son heterocigotos para anemia falciforme.

Se debe mencionar que América Latina tiene una realidad muy compleja como consecuencia de la conquista, la colonización y la inmigración; actualmente los afrodescendientes constituyen una fracción de la población muy significativa de la población regional, pues representa por lo menos el 30%.

Las hemoglobinopatías en América, son el resultado de la constitución genética de las poblaciones y, por lo tanto, están asociadas con la historia, migraciones y entrecruzamientos con otros pueblos. El mercado de esclavos en particular, tuvo gran influencia sobre la presencia de hemoglobinopatías anormales en el Caribe y América Tropical. Los genes talasémicos tienen un origen más amplio; fueron introducidos al trópico americano principalmente de Europa y en menor proporción de África y Asia. En América Latina la prevalencia a nacimientos de talasemia es de 0,10/1.000 y de anemia falciforme de 0,16/1.000. Las frecuencias de Hb S y Hb C en población de origen africano de países del Caribe son de ,1 a 18% y de 0 a 5% respectivamente. En éstos están incluida Colombia con una frecuencia de 11,2% para Hb S y 0% para Hb C.

En Colombia según el DANE, los afrocolombianos corresponden a un 10,62% de la población total Colombiana. Sin embargo, la población afroecuatoriana representa el 7,2% de la población total.

1.2 TEORÍAS SUSTANTIVAS

HEMOGLOBINA Y HEMOGLOBINOPATÍA

1.2.1 HEMOGLOBINA

Al ser la hemoglobina una proteína globular está formada por cuatro subunidades proteicas, llamadas **cadena de hemoglobina** con 4 monómeros de globina iguales, las mismas que están formadas por una cadena polipeptídica conocida como globina que se encuentra unida mediante enlace no covalente a un grupo HEMO.

La hemoglobina tiene como función transportar el oxígeno desde los pulmones hacia los tejidos así como también el dióxido de carbono desde los tejidos a los pulmones. Hay seis tipos de globinas conocidas como: α , β , γ , δ , ϵ y ξ .

Las hemoglobinas de Gower I ($\xi_2\epsilon_2$), de Gower II ($\alpha_2\epsilon_2$) y de Portland ($\xi_2\gamma_2$) existen con mayor predominio durante la vida embrionaria, durante la vida fetal hay predominio de la hemoglobina F ($\alpha_2\gamma_2$) y la hemoglobina A ($\alpha_2\beta_2$) predomina en la edad adulta.

1.2.2 HEMOGLOBINOPATÍA

La hemoglobina en algunas ocasiones puede sufrir mutaciones en los genes que codifican las cadenas de globina, originando el desorden genético conocido como Hemoglobinopatía considerado el trastorno más común que afecta al hombre.

Las mutaciones genéticas de la Hemoglobina pueden ser clasificadas en tres grupos que a continuación se detallan:

1. Las variantes estructurales
2. Talasemias
3. Un diverso grupo de condiciones benignas denominadas persistencia hereditaria de hemoglobina fetal (HPFH).

Hay que mencionar que las Hemoglobinopatías más frecuentes son las que han sido afectadas en la cadena beta en comparación con las alfa.

1.2.2.1 CLASIFICACIÓN DE LAS HEMOGLOBINOPATÍAS

Restrepo F; Loaiza N; Arrubla M; Cossio S & Molina J, (2010). Las Hemoglobinopatías se clasifican en:

1.- Hemoglobinopatías estructurales: Reciben este nombre las alteraciones de la molécula de Hemoglobina debidas a la sustitución de un aminoácido en una de las cadenas de globina. La base genética de las hemoglobinopatías es una mutación en el ADN.

a) Hemoglobinopatías S

b) Hemoglobinopatías C

c) Hemoglobinas inestables

d) Hemoglobina M

e) Hemoglobinas alteradas con afinidad por el oxígeno.

f) Hemoglobinopatías estructurales asociadas con fenotipo talasémico: Hb E, constant spring y Lepore.

2.- Hemoglobinopatías por defecto en la producción de cadenas globínicas: talasemias (α , β , γ , ϵ y ξ)

3.- Persistencia hereditaria de la hemoglobina fetal.

4.- Hemoglobinopatías adquiridas:

- a) Metahemoglobinemias tóxicas
- b) Carboxihemoglobina
- c) Sulfahemoglobinas tóxicas
- d) Aumento de la Hb fetal debido a trastornos hematológicos como leucemias, anemias aplásica, HPN o tumores no hematológicos (Suardías- Cruz- Colina, 2004).

1.2.2.2 HEMOGLOBINOPATÍAS S

La Hemoglobinopatías S son anemias hemolíticas crónicas, congénitas, debidas a la herencia del gen de la Hemoglobina S. Constituyen hemoglobinopatías estructurales, ya que la alteración de la molécula de hemoglobina se produce por la sustitución de un aminoácido en una de las cadenas de la globina, y tiene como base genética una mutación en el ADN. La enfermedad puede ser el resultado de la combinación de dos variantes de hemoglobina o de una variante de hemoglobina y un talasémico. La más frecuente es la Hemoglobinopatía SS, seguida en orden de frecuencia, de SC, SbTal+, SbTal ° (Suardías- Cruz- Colina, 2004).

1.2.2.3 HEMOGLOBINOPATÍA SS

Esta enfermedad se caracteriza por:

- Modo de herencia: autosómica recesiva. Desde el punto de vista clínico, el paciente heterocigótico raramente tiene expresión fenotípica de significación, mientras que el homocigótico tiene manifestaciones clínicas de severidad variable.
- Distribución geográfica: el 45% de la población africana tiene rasgo de drepanocitema. En los Estados Unidos, América Latina y el Caribe, aproximadamente el 8% de los negros portan el gen.

- Fisiopatología: la sustitución de la timina por la adenina en el sexto codón del gen β , trae como resultado que se codifique valina en lugar de glutamina, en la sexta posición de la cadena β . Este cambio en la estructura es responsable, a su vez, de cambios en la estabilidad y solubilidad de la molécula de Hb S, la cual puede polimerizar, y forma un gel muy viscoso que produce cambios en las propiedades reológicas del eritrocito, lo que constituye el evento más importante de esta enfermedad (Suardías- Cruz- Colina, 2004).

1.2.2.4 HEMOGLOBINOPATÍAS C

Como afirma Carnero (1998), la Hemoglobina C se caracteriza por la sustitución del ácido glutámico de la posición 6 de la cadena β por lisina. Es una hemoglobinopatía propia de África occidental, pero puede encontrarse con cierta frecuencia en España. El estado Homocigoto (CC) se caracteriza por una ligera anemia hemolítica crónica con esplenomegalia. El estado heterocigoto (AC) no produce trastorno alguno. Aunque la Hb C tiende a cristalizar en condiciones de hipoxia, no produce crisis vasclusivas como las de la Hb S.

1.3 REFERENTES EMPÍRICOS

1.3.1 DETERMINACIÓN DE HEMOGLOBINOPATÍAS

El estudio electroforético de las hemoglobinas es necesario para:

- Confirmar un diagnóstico provisional, tal como la enfermedad de células falciformes o la β talasemia mayor
- Explicar una anomalía hematológica, como anemia o microcitosis.

- Identificar los fetos en riesgo de hemoglobinopatías y ofrecer a los padres asesoramiento genético (Saenz- Chávez- Quintana, 2011).

La electroforesis alcalina pH: 8,5 en gel de agarosa, debido a su simplicidad, es uno de los métodos más populares para el screening de Hb. Es costo- efectiva para laboratorios de bajo volumen de muestras, sin embargo, se requiere la preparación manual de las muestras.

1.3.2 ELECTROFORESIS DE HEMOGLOBINA

La electroforesis capilar es el método más recientemente desarrollado para la cuantificación y detección de Hemoglobinas normales y anormales aprobado por la FDA y que constituye una ayuda en el diagnóstico de Hemoglobinopatías y Talasemias. El diagnóstico básico de las hemoglobinopatías está basado en la separación y cuantificación de las fracciones normales de la hemoglobina (A, A₂, F) y hemoglobinas anormales (S, E, C, D). La electroforesis capilar completamente automática ha probado ser la técnica óptima entre los métodos preferidos en el laboratorio moderno, la electroforesis capilar tiene alta sensibilidad y especificidad. La electroforesis capilar (CE) es una técnica de separación modernización basada en la diferente velocidad de migración de las distintas especies cargadas bajo la acción de un campo eléctrico. La separación se lleva a cabo en un capilar de sílice fundida de diámetro muy pequeño (10-20 μm). La electroforesis capilar permite la separación de moléculas cargadas en función de su movilidad electroforética propia en un tampón de pH dado, y, según el pH del electrolito. En la Electroforesis Capilar la inyección en los capilares de las muestras diluida con la solución hemolizante. La separación se realiza a continuación aplicando una diferencia de potencial de varios miles de voltios en los extremos de cada capilar, la detección directa de las hemoglobinas se efectúa a 415 nm en el

lado catódico. Los capilares se lavan antes de cada análisis con una solución de lavado, y luego con el tampón de análisis (Arends –Chacín-Montilla- Guevara -2007).

1.3.2.1 FUNDAMENTO DE LA ELECTROFORESIS CAPILAR EN LA DETECCIÓN DE HEMOGLOBINAS

La Electroforesis capilar utiliza el principio de electroforesis en solución libre, una técnica de separación electrocinética realizada en un tubo de diámetro interno inferior a 100 μm lleno de un tampón compuesto por electrolitos. Se considera una tecnología intermedia entre la electroforesis de zona en soporte y la cromatografía líquida. Las Hemoglobinas son detectadas directamente en una burbuja existente en el capilar mediante espectrofotometría de absorbancia a 415 nm que es la longitud de onda de absorción específica de las hemoglobinas. La detección directa proporciona automáticamente una cuantificación relativa precisa de cada fracción individual de las hemoglobinas como la Hb A₂ en el diagnóstico de las talasemias. El resultado o electroferograma se compone de 300 lecturas (puntos) consecutivas y se divide en 15 zonas. Para facilitar la interpretación, los resultados son automáticamente posicionados con respecto a la Hb A (Saenz- Chávez- Quintana, 2011).

1.3.2.2 ISOELECTROENFOQUE

Esta técnica también conocida como electroforesis en soporte, consiste en crear un gradiente de pH lineal en un capilar con pared tratada que contiene un anfótero. Cada compuesto migra y se enfoca al pH que tenga igual valor que su punto isoeléctrico (al pI su carga neta es nula). Seguidamente, bajo el efecto de una presión hidrostática y manteniendo el campo eléctrico, se desplazan las especies separadas hacia el detector. Las altas eficiencias

obtenidas con este procedimiento permiten separar péptidos con pI que apenas difieren entre sí 0.02 unidades de pH (Sáenz- 2011).

1.3.3 CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA PRESION (HPLC)

Es considerada el método de diagnóstico inicial en laboratorios con una alta carga de trabajo, puede ser utilizada para la cuantificación de Hb S, A2 y F y para la detección, identificación y cuantificación provisional de muchas variantes. Esta técnica por lo general proporciona una cuantificación precisa de Hb A2 y es por lo tanto adecuada para el diagnóstico de β talasemia.

En este método los analizadores están automatizados, se necesita pequeños volúmenes de muestra para el análisis y permite realizar la identificación provisional de una mayor proporción de variantes de Hemoglobina. Por lo general separa hemoglobinas A, A2, F, S, C, D- Punjab y G-Philadelphia. Sin embargo, la E y la Lepores co- eluyen junto a HbA2 (al igual otras co-eluyen con A, S y F) y deben ser reconocidas por otras técnicas. Separa la HbA1C y otros derivados lo que hace dificultosa la interpretación (Saenz- Chávez- Quintana, 2011).

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1 METODOLOGÍA

2.1.1 Tipo de Estudio

Para el desarrollo del presente caso se realizó un estudio Cualitativo – cuantitativo, descriptivo y prospectivo debido a que la información adquirida se basa en el estudio y recopilación bibliográfica de investigaciones basadas a las hemoglobinopatías, diagnosticando con el uso de muestras de sangre del cordón umbilical perteneciente a recién nacidos con descendencia africana y caracterizar las hemoglobinopatías con variables de laboratorio y factores de riesgo.

Los criterios de inclusión fueron: las muestras de sangre seca que se obtuvieron del cordón umbilical de recién nacidos afrocolombianos de seis departamentos que fueron fijados en papel Whattman 903.

Los criterios de exclusión para este trabajo investigativo fueron:

- Muestras sin cumplimiento de los criterios de calidad: Muestra coagulada, hemolizada, coagulada-hemolizada, sobresaturada, sobresaturada-hemolizada, insuficiente, halos de suero, coagulada-sobresaturada y hemolizada-insuficiente.
- Muestras con problemas de elución por envejecimiento.

2.2 MÉTODO DE ESTUDIO DE CASOS

Para el desarrollo de la investigación se lo realizó usando muestras de sangre del cordón umbilical de recién nacidos afrocolombianos de seis departamentos cuyas muestras se extrajeron en los laboratorios de Salud Pública departamentales de Colombia con un alto

índice de población afrodescendiente, de ahí se envió la Instituto Nacional de Salud (INS) para el análisis correspondiente a las hemoglobinopatías.

La información requerida para este estudio se recopiló con una base de datos de estadística descriptiva simple por medio de la base de datos de Microsoft Office Excel 2010. En primer lugar se distribuyó las frecuencias por género, régimen de afiliación y Departamento. Sobre estas frecuencias diferenciadas se utilizó la prueba de Chi – Cuadrado de Pearson con significancia al 95% y para estimar los límites de confianza de los porcentajes el paquete estadístico Open Epi mediante el Score de Wilson con significancia al nivel de $p < 0.005$. Para la correlación entre series de datos se usó el coeficiente de correlación de Pearson, r con significancia si $r = 80\%$.

2.3 PREMISA

Dentro de los hallazgos de este estudio se destaca como premisa teórica un conjunto de conceptos básicos-teóricos a partir de los cuales se puede explicar las hemoglobinopatías dentro del marco sociocultural e investigativo, además representa un aspecto de carácter empírico u observacional debido a que los datos registrados en los diferentes departamentos de Colombia conllevan a una sugerir una investigación en nuestro país. Actualmente la sangre del cordón umbilical ha marcado una novedad clínica -médica muy útil debido a que esta muestra de sangre posee un número elevado de células progenitoras hematopoyéticas que producen células sanguíneas diferenciadas por día; remarcando que esta muestra es muy estable, con facilidad de transportar y con mínimas cantidades permiten valorar y diagnosticar.

Uno de los principales problemas que este trabajo enfrentó fue la calidad de las muestras debido a que no cumplieron con los criterios establecidos, también que algunas muestras no fueron informativas debido a que presentaron problemas de elución por tener más de 3 meses.

2.4 CUADRO DE CATEGORÍAS, DIMENSIONES, INSTRUMENTOS Y UNIDADES DE ANÁLISIS (CDIU), EN DOS NIVELES: DE ABSTRACCION TEÓRICA Y EMPÍRICA.

CATEGORÍA	DIMENSIÓN	INTRUMENTOS	UNIDAD
DIAGNÓSTICO DE HEMOGLOBINOPATÍAS	Pruebas de laboratorio Antecedentes étnicos de susceptibilidad a la enfermedad Técnica de recolección	Muestra seca del cordón umbilical de los recién nacidos. Papel Whathman 903 Electroforesis capilar de Sebia Isoelectroenfoque de Perkin Elmer Reportes de laboratorio Referentes empíricos	Laboratorio Clínico Neonatos de seis departamentos de Colombia
ASISTENCIAL	Controles prenatales Cobertura de salud	Referentes Empíricos Reportes de laboratorio	Población afrocolombiana
SOCIOCULTURAL	Mitos Costumbres	Referentes Empíricos Reportes de laboratorio	Población afrocolombiana

Fuente: (Cantuñi, 2016)

2.5 DESCRIPCIÓN DE LAS UNIDADES DE ANÁLISIS

CATEGORÍA:

Este estudio considera a 3 Categorías: Diagnóstico que permite la determinación de las Hemoglobinopatías en muestras de sangre del cordón umbilical de recién nacidos afrocolombianos que tienen antecedentes étnicos de susceptibilidad a la enfermedad y que se debe tener en cuenta la técnica de recolección; Asistencial debido a que la población afrocolombiana debe realizarse controles preventivos según el nivel de cobertura y Sociocultural desde el punto de vista de costumbres y mitos.

DIMENSIÓN:

Son aspectos específicos de cada categoría que indica el diagnóstico temprano y oportuno de las Hemoglobinopatías cuyo costo-beneficio es el adecuado usado el método de análisis. A su vez socioculturalmente esta patología está basada en mitos ya que se cree que la alteración de la Hemoglobina se da por la migración de los esclavos quienes no se pudieron adaptar a las condiciones climáticas del Continente Americano, y así generar mutaciones en la Hemoglobina.

INSTRUMENTOS:

Los instrumentos de análisis se basan principalmente en la muestra de sangre del cordón umbilical de recién nacidos afrocolombianos, las cuales fueron fijados en el papel Whattman 903, siendo analizados por la técnica de electroforesis capilar de Sebia y por isoelectroenfoque capilar; así también requiere de referentes empíricos y resultados de laboratorio para permitir la evaluación correcta.

UNIDAD:

El Laboratorio Clínico juega un papel muy importante en la detección de las Hemoglobinopatías ya que al utilizar métodos de análisis permite obtener cualquier alteración y así conducir a la detección oportuna, brindando resultados confiables, confidenciales; usando muestra de sangre seca del cordón umbilical de la población afrocolombiana.

2.6 GESTIÓN DE DATOS

Este estudio de caso involucró la recolección de muestras de sangre seca obtenidas del cordón umbilical del recién nacido, las cuales fueron utilizadas en primera instancia para el tamizaje neonatal rutinario de hipotiroidismo congénito y a su vez ésta muestra fue eluida por medio de soluciones buffer para el análisis de hemoglobinopatías, fijadas en el papel Whattman 903, se usó la técnica de Electroforesis Capilar (Sebia, Capillarys 2®) y la Técnica de Isoelectroenfoque (Perkin Elmer ®). Los resultados se analizaron estadísticamente con el Microsoft Office.

2.7 CRITERIOS ÉTICOS DE LA INVESTIGACIÓN

Al ser utilizadas muestras en papel Whattman 903, no se mantuvo una relación directa con el paciente, cumpliéndose con las condiciones del manejo de las muestras como anónimas, como lo establece la Asociación Médica Mundial en su declaración de Helsinki.

3. RESULTADOS

3.1 ANTECEDENTES DE LA UNIDAD DE ANÁLISIS

En este estudio se consideró 6 Departamentos de Colombia: Putumayo, Nariño, Guajira, San Andrés, Chocó y Valle del Cauca siendo regiones con un porcentaje elevado de la población afrocolombiana. De los cuales se consideró 5141 (100%) muestras de sangre seca de los recién nacidos afrodescendientes, de los cuales se analizaron solo 3847 (75%) muestras ya que el resto no cumplió con los parámetros de calidad, de estos resultados se evaluó a 1801 (47%) por la técnica de Electroforesis Capilar y 2046 (53%) por la técnica de Isoelectroenfoque la cual fue analizada en un mayor porcentaje. De las 3847(75%) muestras solo 3224 (84%) manifestaron información de variaciones en la Hemoglobina; de las cuales 228 (7,02%) fueron las alteradas y el resto datos normales.

3.2 PRESENTACIÓN DE LOS RESULTADOS

El estudio de Hemoglobinopatías detectadas en muestras de sangre del cordón umbilical en los recién nacidos afrocolombianos en base a su incidencia y factores de riesgo genético que inciden en esta enfermedad fue analizado en función de 3 categorías: Diagnóstico, que permite valorar a aquellos recién nacidos con prevalencia a desarrollar las hemoglobinopatías mediante su fenotipo y antecedentes familiares, reportes de laboratorio usando métodos de electroforesis que se consideraron como anormales los cuales fueron reportados; Asistencial y sociocultural, con el fin de identificar los factores de riesgo asociados a los controles prenatales.

Este estudio del 2012 permite conocer los problemas de salud que atraviesa Colombia con su población afrocolombiana, para prevenir la mortalidad ya que tuvo correlación

significativa entre esta patología y la población afrodescendiente. Además el estudio indica que el total de Hemoglobinopatías corresponde a un 7.02%, hay una incidencia alta de Hemoglobinopatías del heterocigoto Hb S con un porcentaje de 4,65%, seguido de la Hemoglobinopatía del heterocigoto C cuyo valor es 1,88%. (Ver Anexo Tabla N°3)

4. DISCUSIÓN

4.1 CONTRASTACIÓN EMPÍRICA

Las Hemoglobinopatías han sido estudiadas al utilizar muestras de sangre periférica con EDTA y utilizando como método específico la electroforesis de Hemoglobina, prevaleciendo la patología de la Hb S. Hay que manifestar que en Colombia se realizó el estudio que permitió detectar mediante el uso de muestras de sangre del cordón umbilical en recién nacidos la detección de hemoglobinopatías usando el método de electroforesis en geles de isoelectroenfoque y en columna de electroforesis capilar que como resultados se obtuvo mayor porcentaje de Hb S y Hb C en los pobladores analizados de población afrocolombiana. Peñaloza- Espinoza-Buentello- Malo. (2008). Expresan que en México se usó muestras de sangre periférica y determinó mediante electroforesis una alta frecuencia de Hb S. Beltrán- Martín-Vega (2010). Indican que la Habana es una provincia con una frecuencia de portadores de Hemoglobina S los cuales fueron detectados por el “Programa de prevención de la Hb SS y las Hb SC” que existe en Cuba en el que se exige a toda gestante de realizarse la electroforesis de la Hemoglobina. Ares- Chacín- Bravo- Montilla. (2007). Manifiestan que en Venezuela las variables más frecuentes fue la Hb S seguida de la Hb C y Hb D, resultado que se obtuvo al analizar muestras de sangre periférica en un tubo con EDTA analizado por el método de electroforesis de hemoglobina en membranas de acetato de celulosa y por el método de cromatografía líquida de alta presión de intercambio catiónico (HPLC-CE). Como

afirma Guevara, A. (1998) en Ecuador se estudió a individuos de población afrodescendientes, de los cuales se recolectó sangre venosa anticoagulada con EDTA y se analizó mediante electroforesis sobre acetato de celulosa dando como resultado un porcentaje de prevalencia alto de Hemoglobinopatías con el genotipo Hb AS.

4.2 LIMITACIONES

Este trabajo tuvo como limitante la obtención de la muestra del cordón umbilical ya que no todas cumplían con los requisitos de calidad siendo éstos: coagulación, muestra hemolizada, saturación, muestra insuficiente y presencia de halos de suero. Además hay que señalar que también existió el transporte de la muestra desde los laboratorios de salud hasta el Instituto de Nacional de Salud debido a que el tiempo de entrega – recepción dio lugar a que las muestras envejecan.

4.3 LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

Las poblaciones afroamericanas son parte de los grupos étnicos de los países por lo tanto son una fuente de estudio no explorada para el diagnóstico de una enfermedad prevalente propia de su población que es la Alteración de la Hemoglobina. Con los datos obtenidos de este estudio nos ayudan a identificar con una sola muestra dos diagnósticos muy importantes siendo éstos las Hemoglobinopatías y el Tamizaje Neonatal que deben ser asumidas como políticas de Estado en poblaciones con un alto porcentaje de esta población.

4.4 ASPECTOS NOVEDOSOS DEL ESTUDIO DE CASO

Las hemoglobinopatías no son muy estudiadas, en Ecuador existe muy poca información, y más aún si se puede aplicar las recomendaciones de la OMS en la que se utiliza una muestra

de sangre del cordón umbilical para realizar el Tamizaje Neonatal y la misma muestra para identificar las hemoglobinopatías anormales, ya que su detección se lo realiza de una manera fácil, con un costo relativamente bajo y con el beneficio de iniciar el manejo clínico y así reducir la morbilidad. Existen estudios en los que se utiliza muestra de sangre periférica más no sangre del cordón umbilical, y según los resultados dan valores diagnósticos par las alteraciones de la hemoglobina; por lo tanto estos dos tipos de muestra permiten tener un valor médico detectable y cuantificable.

5. PROPUESTA

En Ecuador se realiza el Tamizaje Metabólico Neonatal con la finalidad de prevenir las discapacidades intelectuales y la muerte precoz en los recién nacidos y sobre todo manejar los errores del metabolismo que no incluye el diagnóstico de hemoglobinopatías por tal motivo se debería incluir pruebas diagnósticas para la detección temprana, debido a las poblaciones afrocolombianas que pueden estar afectadas con esta anormalidad de la hemoglobina y no han sido detectadas.

Además se debería realizar estudios sobre la detección de hemoglobinopatías usando una sola muestra que bien sea la del cordón umbilical para determinar el tamizaje metabólico y las hemoglobinopatías evitando doble pinchazo.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

- El estudio indica que poblaciones afrocolombianas tienen alta incidencia a manifestar Hemoglobinopatías alcanzando un porcentaje de 7,02% en las muestras de sangre del recién nacido.
- El estudio presenta una incidencia de Hemoglobinopatías con casos de heterocigotos S para los recién nacidos afrocolombianos.
- Los antecedentes familiares y los antecedentes étnicos de susceptibilidad a la enfermedad son los factores de riesgo que inciden en las hemoglobinopatías de la población afrocolombiana analizada.

RECOMENDACIONES

- Hay que tomar medidas gubernamentales para la detección oportuna de las Hemoglobinopatías y mediante de la prueba del Tamizaje Metabólico utilizando muestra del cordón umbilical.
- En Ecuador las Instituciones de Salud y universidades deberían realizar estudios actualizados usando muestra de sangre de cordón umbilical para la determinación de las Hemoglobinopatías.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arderio, A., Lacambra, M. & Queralto, J. (2011). Segunda Edición. Bioquímica Clínica y Patología Molecular. Barcelona. Editorial Reverté.
- Arends, A. Chacín, M., Montilla, S. & Guevara, J. (2007). Hemoglobinopatías en Venezuela. Venezuela. Revista Interciencia. 32.(8). pp. 516-521
- Beltrán, Y., Martín, M. & Vega, V. (2010). Hemoglobinopatías SS, SC, S/ β -talasemia: Prevalencia en pacientes pediátricos en cinco municipios de Ciudad de la Habana. Revista Panorama Cuba y Salud. 5 (Especial). pp. 74-76
- Brandan, N. (2011). Hemoglobina. Recuperado de https://docs.moodle.org/all/es/images_es/5/5b/Hemoglobina.pdf
- Carnero, E. (1998). Hemoglobinopatías. Recuperado de <http://html.rincondelvago.com/hemoglobinopatias.html>
- Cuero, R. & Yajamir, C. (2015). Título e Licenciatura en Bioanálisis Clínico “Determinación de drepanocitosis en niños afroecuatorianos de 4 a 12 años de edad residentes en Piquiucho en el Valle del Chota, 2013”. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Recuperado de <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/8764/ESCUELA%20DE%20BIOANALISIS%202015.pdf?sequence=1>.
- Fonseca, T. (2011). Detección de hemoglobina S en población neoespartana autóctona mediante HPLC y estimación del aporte africano presente en esta población híbrida actual. Recuperado de <http://www.portalesmedicos.com/publicaciones/articles/2719/1/Deteccion-de-hemoglobina-S-en-poblacionneoespartana-autoctona-mediante-HPLC-y-estimacion-del-aporte-africano-presente-en-esta-poblacionhibrida-actual.html>
- González, R., Maza, M. & Oliva, Y. (2013). Resultado del Programa de prevención de Hemoglobinopatías SS y SC. Revista de Ciencias Médicas. 17 (4). pp. 44-53.
- Guevara, A., Chico, M., Calvopiña, M. & Guderian, R. (1998). Hemoglobinopatías en comunidades de raza negra de los ríos Cayapas y Onzoles, cantón Eloy Alfaro, provincia de Esmeraldas, Ecuador. Revista Biomédica. 18 (2). pp. 122-128.
- Martín, M. (2011). Programa de Prevención de anemia falciforme (III). La Electroforesis de la Hemoglobina: indicación e interpretación. 12 (2). Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21251996000200006
- Ministerio de Salud Pública. Proyecto de Tamizaje Metabólico Neonatal. Primera Edición. Quito: MSP. 2015. Recuperado de <http://www.salud.gob.ec/proyecto-de-tamizaje-metabolico-neonatal/>
- Montaño-Figuerora, E. & Medina, J. (2011). Células progenitoras hematopoyéticas de sangre el cordón umbilical. Revista Médica del Hospital General de México. 74 (2). pp. 101-107
- Peñaloza – Espinoza, R., Buentello-Malo, L. & Hernández-Maya, A. (2011). Frecuencia de la Hemoglobina S en cinco poblaciones mexicanas y su importancia en la salud pública. Revista Salud Pública de México. 54 (4). pp. 325-329
- Pérez, S. (2016). Hemoglobinopatías. Recuperado de <http://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/mod/resource/view.php?id=13116>
- Rangel, M. (2005). La población afrodescendiente en América Latina y los objetivos de Desarrollo del Milenio. Un examen exploratorio en países seleccionados utilizando información censal. Recuperado de <http://www.cepal.org/celade/noticias/paginas/7/21237/MRangel.pdf>

- Rosero, M. & Bermúdez, A. (2012). Análisis de Hemoglobinopatías en regiones afrocolombianas usando muestras de sangre seca de cordón umbilical. 37 (3).pp.118-124.
- Saenz, G. Chávez, M. & Quintana, E. (2011). Las Hemoglobinopatías en Costa Rica Aspectos Históricos. Culturales y Epidemiológicos. Revista de Costa Rica. 7 (1). Pp. 95-106.
- Sáenz, G. (2011). Hemoglobinas anormales.47 (4). Recuperado de http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-60022005000400003
- Sáenz, J., Elizondo, J. & Arrollo, G. (2011). Hemoglobinopatías en 12000 escolares. 23 (1). pp. 89-99
- Silva, J., Malambo, D., & otros. (2012). Tamizaje de Hemoglobinopatías en una muestra de la población infantil de Cartagena. 33 (2). Recuperado de https://encolombia.com/medicina/revistas-medicas/pediatrica/vp-332/33-2_pediatrica_tamizaje/
- Sorroche, P. & Saez, M. (2014). La electroforesis capilar en el estudio de las Hemoglobinopatías y Talasemias. 18 (2). pp. 372
- Suardías, J. Cruz, C. & Colina, A. (2004). Laboratorio Clínico. Recuperado de <http://gsdl.bvs.sld.cu/cgi-bin/library?e=d-00000-00---off-0preclini--00-0----0-10-0---0---0direct-10---4-----0-11--11-es-50---20-about---00-0-1-00-0-0-11-1-0gbk-00&a=d&c=preclini&cl=CL1&d=HASH092e43c34fe527df7c1340.7.pr>
- Berrecil, I.(2011). Electroforesis. Recuperado de http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/Exposicion_electroforesis_5087.pdf

ANEXOS

TABLA 1. DESCRIPCIÓN DE LAS MUESTRAS RECIBIDAS SEGÚN GÉNERO Y DEPARTAMENTO DE ORIGEN

	Muestras recibidas Total	N 5141	% 100
Género	Masculino Femenino Sin dato	1884 2009 1248	37 39 24
Régimen de afiliación	Subsidiado Contributivo No asegurado Sin dato	3386 604 267 884	66 12 5 17
Departamento	Putumayo Nariño Guajira San Andrés Islas Chocó Valle del Cauca	928 1211 671 645 983 703	18 24 13 13 19 14

Fuente: (Rosero, 2012).

TABLA 2. DISTRIBUCIÓN DE MUESTRAS SEGÚN MÉTODO DE ANÁLISIS Y CLASE DE RESULTADO

Total de muestras recibidas	5141 (100%)
Total de muestras procesadas	3847 (75%)
Analizadas por electroforesis capilar	1801 (47%)
Analizadas por isoelectroenfoque	2046 (53%)
Resultado adecuado para interpretar	3244 (84%)
Resultado no útil para interpretar	603 (16%)
Muestras sin procesar por problemas de calidad	1294 (25%)

Fuente: Fuente: (Rosero, 2012).

TABLA 3. DISTRIBUCIÓN DE HEMOGLOBINAS ANORMALES ENCONTRADAS POR DEPARTAMENTO

	Heterocigoto Hb C		Heterocigoto Hb S		Heterocigoto Hb S/C		Homocigoto Hb S		Hemoglobina de Bart		Hemoglobina C y otro		Total
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N
Putumayo	3	0.09	2	0.06	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nariño	21	0.65	32	0.99	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Guajira	5	0.15	20	0.62	-	-	1	0.03	1	0.03	-	-	-
San Andrés	5	0.15	40	1.23	-	-	-	-	4	0.12	-	-	-
Chocó	17	0.52	49	1.51	1	0.03	3	0.09	1	0.03	4	0.12	-
Valle del Cauca	10	0.31	8	0.25	1	0.03	-	-	-	-	-	-	-
Total	61	-	151	-	2	-	4	0.06	6	0.06	4	-	228
Total	-	1.88	-	4.65	-	0.06	-	0.12	-	0.18	-	0.12	7.0

Fuente: Fuente: (Rosero, 2012).

TABLA 4. DISTRIBUCIÓN DE MUESTRAS SIN PROCESAR DE ACUERDO CON LA CARACTERÍSTICA DE CALIDAD DE LA MUESTRA DE SANGRE SECA

Calidad de la muestra	Total	Porcentaje
Coagulada	38	0.74
Hemolizada	62	1.21
Coagulada-hemolizada	3	0.06
Sobresaturada	143	2.78
Sobresaturada-hemolizada	16	0.31
Insuficiente	193	3.75
Halos de suero	16	0.31
Coagulada-sobresaturada	7	0.14
Hemolizada-insuficiente	2	0.04
Total	480	9.3

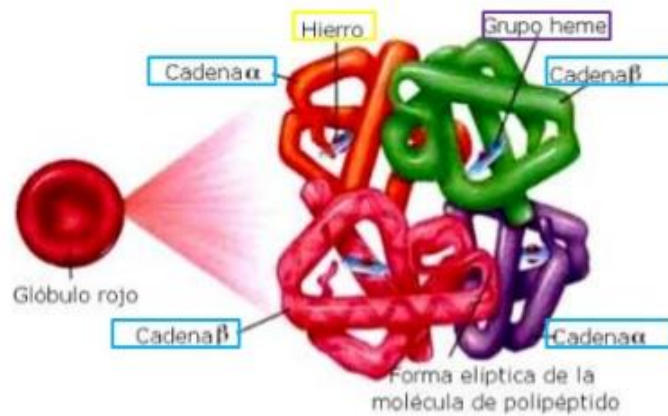
Fuente: Fuente: (Rosero, 2012).

FIGURA N°1 MOLÉCULA DE HEMOGLOBINA

El **átomo de hierro** se encuentra en estado de oxidación ferroso (+2).

La hemoglobina es una proteína con estructura cuaternaria, es decir, esta constituida por cuatro cadenas polipeptídicas: **dos α y dos β** .

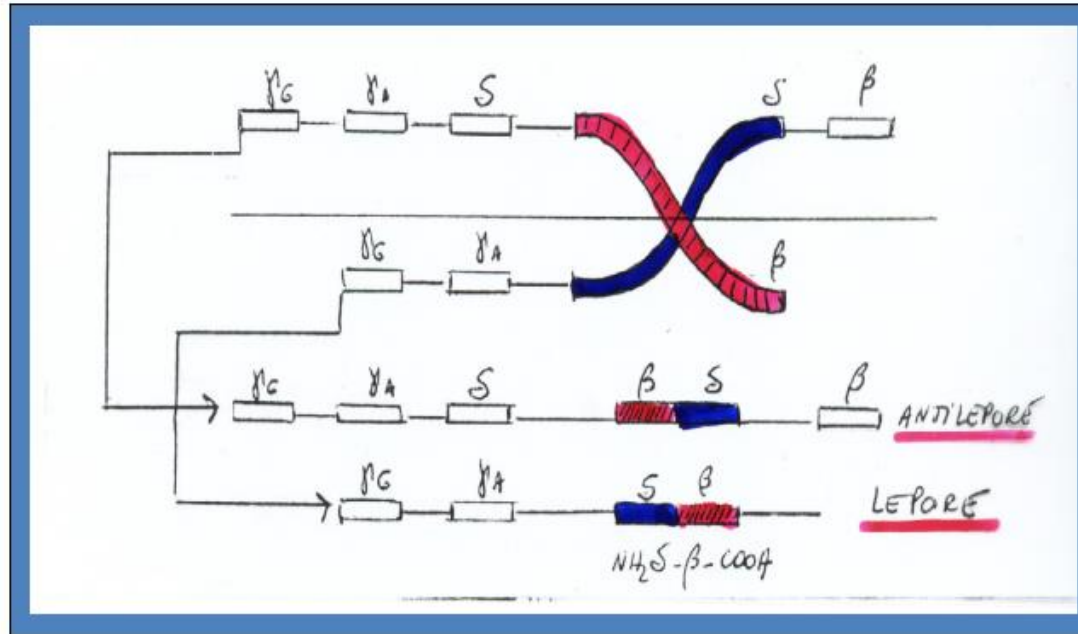
Las cuatro cadenas polipeptídicas de la Hb contienen cada una un grupo prostético, el **Hem**, que les proporciona el color rojo a los hematíes.



Fuente: (Brandan, 2008).

FIGURA N°2 ESQUEMA HEMOGLOBINOPATÍA

HEMOGLOBINOPATIAS

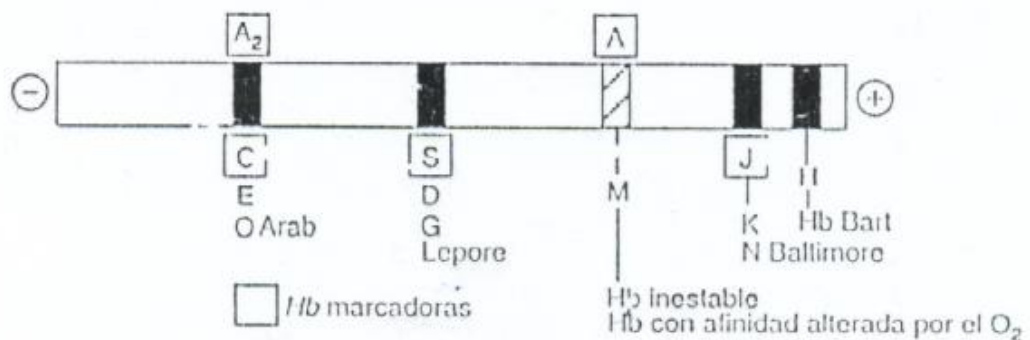


Fuente: (Pérez, 2016).

FIGURA N°3 ACCIÓN DE LA ELECTROFORESIS

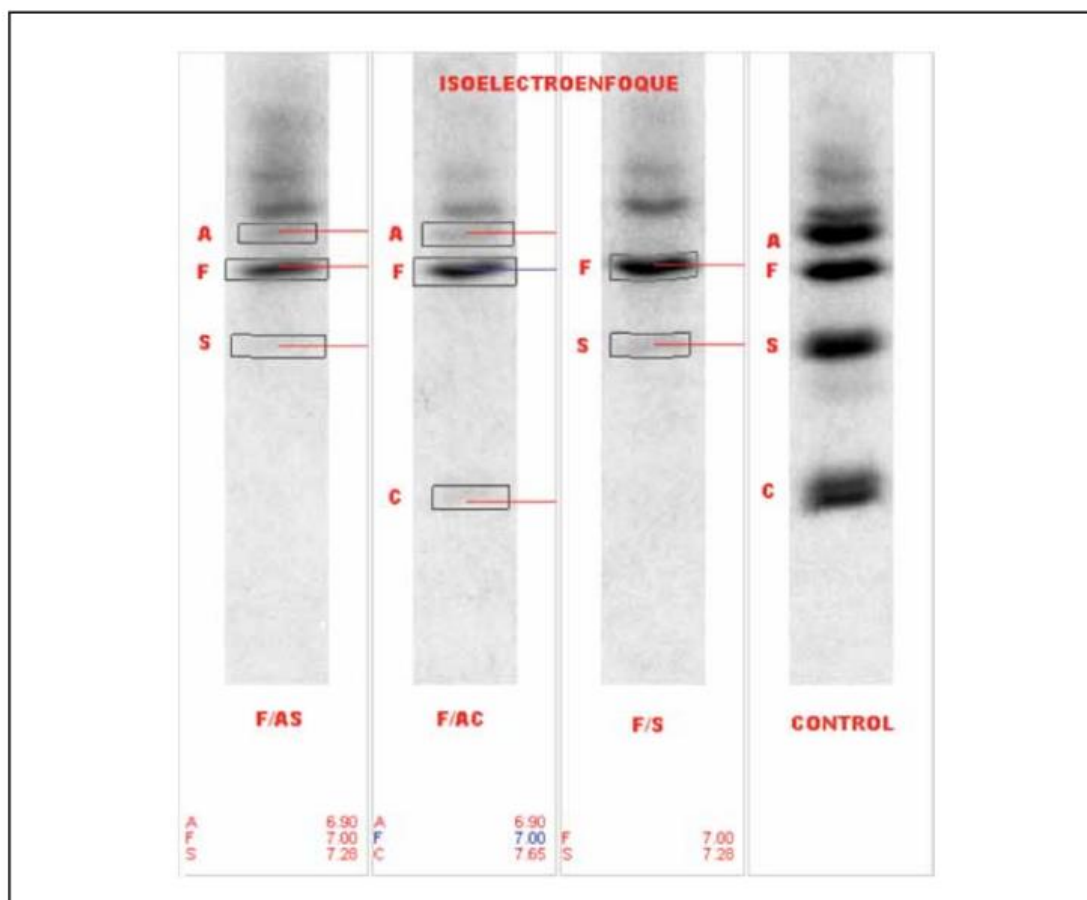
Acetato de celulosa
gelificado- Ph alcalino

Electroforesis



Fuente: (Pérez, 2016).

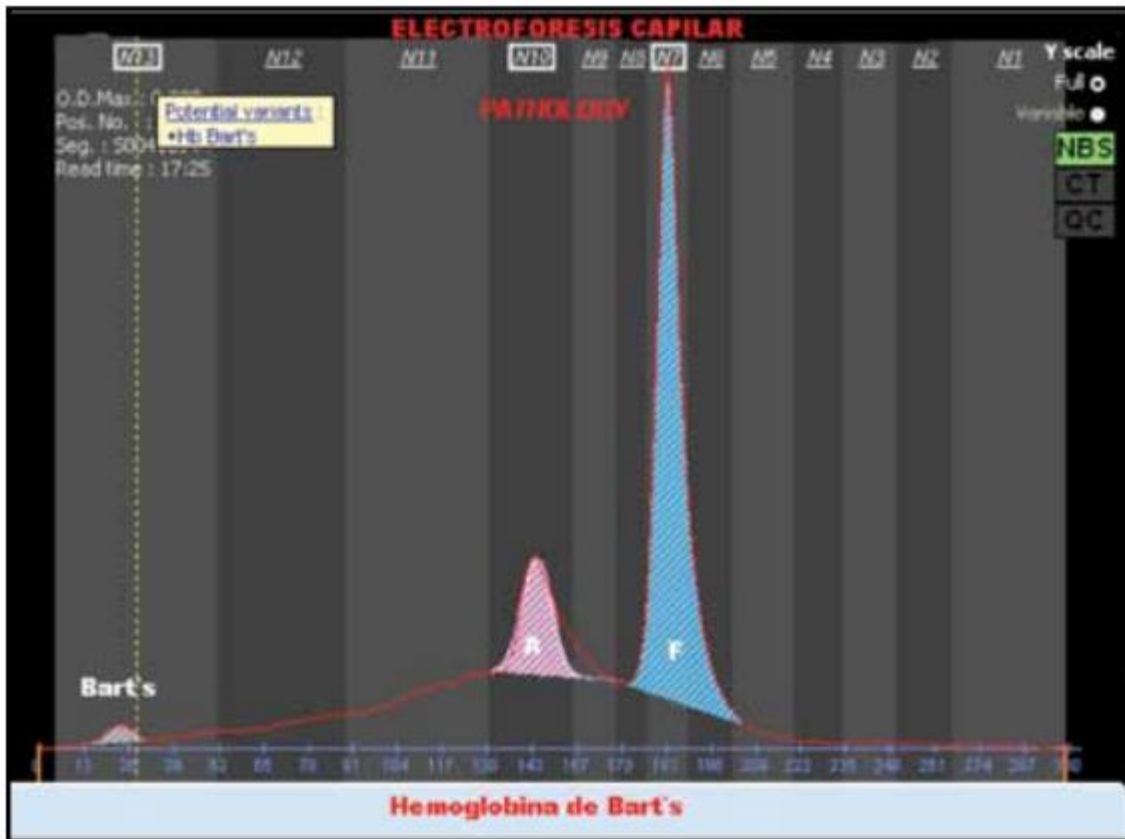
FIGURA N°4 PATRONES ELECTROFORÉTICOS
ISOELECTROENFOQUE CAPILAR



F/AS: heterocigoto hemoglobina S, F/AC: heterocigoto hemoglobina C, F/S homocigoto hemoglobina S y control AFSC. Muestras de sangre seca de recién nacidos analizadas por isoelectroenfoque (Perkin Elmer®). Gel de agarosa, fuente de alimentación 30 vatios, 1200 voltios, 90 minutos. Imagen por densitometría. ScanMarker 8700. Microtek. IsoScanImagingSystem.

Fuente: (Rosero, 2012).

**FIGURA N° 5 IDENTIFICACIÓN DE HEMOGLOBINA DE BART
ELECTROFORESIS CAPILAR**



Muestra de sangre seca de recién nacido analizada en el laboratorio de genética del INS, por la técnica de electroforesis capilar (Sebia®). Muestra diluida con solución hemolizante por siete minutos, inyectada en los capilares, migración a voltaje y temperatura constante, lectura a 415 nm. Imagen en tiempo real, por impresión de pantalla.

Fuente: (Rosero, 2012).

ANEXO A

ARTÍCULO DE ESTUDIO CLÍNICO “ANÁLISIS DE HEMOGLOBINOPATÍAS EN REGIONES AFROCOLOMBIANAS USANDO MUESTRAS DE SANGRE SECA DE CORDÓN UMBILICAL”