

ESTUDIOS MOLECULARES DE ALFA TALASEMIA EN UN LABORATORIO CENTRAL

Roigé Buixadé Jordi, Medina Ugarelli Jorge, Ramos González Nerea, Villalba Hernández Teresa
Catlab, Viladecavalls. Terrassa.

INTRODUCCIÓN:

La alfa talasemia es una hemoglobinopatía hereditaria de carácter autosómico recesivo. Los genes implicados relacionados con la enfermedad, que controlan la producción de la alfa globina, son 4 (2 alfa 1 y 2 alfa 2) y se encuentran en el cromosoma 16. Las alteraciones de estos genes pueden provocar disminución de síntesis de cadenas alfa de hemoglobina, dando lugar a diferentes grados de la enfermedad, desde formas silentes asintomáticas, hasta incompatibles con la vida. En nuestro laboratorio desde 2011 realizamos el estudio molecular de alfa talasemia.

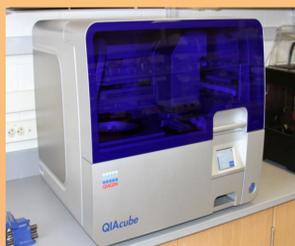
OBJETIVOS:

Conocer las mutaciones y deleciones más frecuentes de los pacientes con sospecha clínica de alfa talasemia detectadas en nuestro centro. Evaluar la eficiencia de un cribado hematológico para optimizar el estudio.

MATERIAL Y MÉTODOS:

Nuestro laboratorio recibe muestras de tres hospitales y de centros de atención primaria con una población aproximada de 1.020.000 habitantes. Diariamente se procesan una media de 1.800 hemogramas. Analizamos las muestras que llegaron al laboratorio de Biología Molecular desde Enero del 2012 hasta Diciembre del 2014. Los motivos de solicitud fueron principalmente estudios familiares, sospecha de hemoglobinopatía y estudio de microcitosis en los que los facultativos de hematología descartaron ferropenia, beta-talasemia u otras hemoglobinopatías. También se realizó estudio de alfa talasemia en pacientes con HbS heterocigota si la banda de HbS era inferior al 30%. Las solicitudes externas fueron también filtradas por nuestros facultativos.

El estudio genético se realiza a partir de sangre total en tubos EDTA extrayendo los ácidos nucleicos con el equipo automático Qiacube. La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) se procesa con el termociclador G-Storm y para la posterior hibridación reversa (kit α -Globin StripAssay) se utiliza el sistema Auto Lipa. La lectura e interpretación de los resultados se realiza mediante el software Online Strip Assay Calculator de Viennalab diagnostics.



QIACUBE. EXTRACCION ADN



TERMOCICLADOR
GENESTORM PCR



AUTOLIPA



ESQUEMA HIBRIDACIÓN
REVERSA

RESULTADOS:

En los tres años estudiados, se analizaron 299 pacientes con los siguientes resultados (tabla 1). Los pacientes que presentaron otras mutaciones diferentes a la deleción 3.7Kb están en la tabla 2.

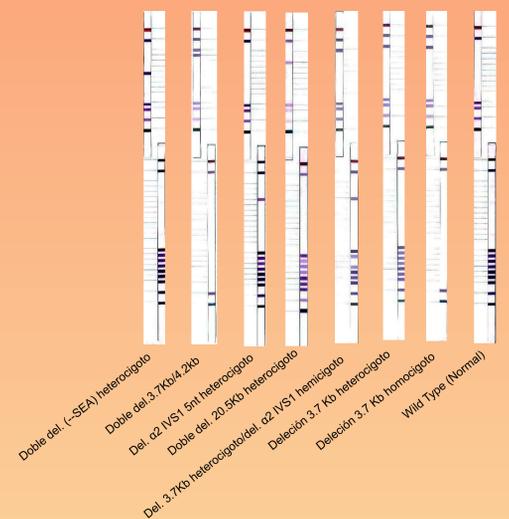
TABLA 1

Años	Total	Wild type(Normal)	Del. 3.7Kb homocigoto	Del. 3.7Kb heterocigoto	Otras mutaciones
2012	69	31	16	16	6
2013	120	51	33	30	6
2014	110	38	34	27	11

TABLA 2

Mutación	casos
Doble del(--SEA) heterocigoto	5
Doble del.3.7Kb/4.2kb	5
Del. α 2 IVS1 5nt heterocigoto	6
Del. 3.7Kb heterocigoto/del. α 2polyA-1 hemicigoto	1
Del. 3.7Kb heterocigoto/del. α 2 IVS1 hemicigoto	2
Doble del. 20.5Kb heterocigoto	1
Triplicación anti-3.7Kb	3

Ejemplo de resultados del equipo α -Globin StripAssay



Entre el año 2013 y 2014 no se detectaron causas que justificasen la microcitosis en 14 pacientes.

Para valorar la eficacia del cribado por hematología, tomamos como referencia un estudio de 2008-2010 (ref.0928, V Congreso SEQC) en nuestro centro, donde vimos que el rendimiento de la técnica en los análisis pedidos por médico solicitante era un 35% versus 50% si se realizaba un filtrado por hematología teniendo en cuenta resultados de hemograma y otras técnicas. Se puede apreciar un aumento del rendimiento diagnóstico de este cribado (%mutaciones/muestras totales) en los tres años estudiados, aun con el incremento de muestras analizadas (tabla 3).

TABLA 3

Años	Wild type	Mutados
2012	45%	55%
2013	42.50%	57.50%
2014	34.50%	65.50%

CONCLUSIONES:

La alteración molecular más frecuente en nuestro estudio es la deleción de 3.7 Kb, tanto en estado homocigoto como heterocigoto, similar a lo descrito por otros autores, refiriéndose al área geográfica mediterránea. El hallazgo de mutaciones como la deleción (--SEA) propia de la población asiática, puede explicarse debido al fenómeno migratorio. Es importante realizar un trabajo conjunto entre las áreas de Hematología y Biología Molecular para realizar un cribado de las muestras recibidas con el fin de optimizar recursos.

