

## CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LA BETA-TALASEMIA HETEROCIGOTA EN LANZAROTE

J.M. Calvo-Villas<sup>a</sup>, S. de la Iglesia Iñigo<sup>b</sup>, P. Ropero Gradilla<sup>c</sup>, M.F. Zapata Ramos<sup>d</sup>, E. Carreter de Granda<sup>a</sup>, I. Álvarez Twose<sup>a</sup> y F. Sicilia Guillén<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Hematología y Hemoterapia y <sup>d</sup>Servicio de Análisis Clínicos del Hospital General de Lanzarote. <sup>b</sup>Servicio de Hematología del Hospital Doctor Negrín de Las Palmas. <sup>c</sup>Servicio de Hematología del Hospital Clínico Universitario San Carlos de Madrid.

**Introducción:** Los estudios epidemiológicos en España han mostrado una incidencia elevada de la  $\beta$  talasemia heterocigota con una gran heterogeneidad molecular. Las lesiones genéticas de la  $\beta$  talasemia se distribuyen en las diferentes provincias y comunidades españolas según los antecedentes de paludismo en la zona y/o el grado de aislamiento geográfico de su población.

**Objetivo:** Realizar la caracterización molecular de las alteraciones genéticas que causan  $\beta$  talasemia utilizando la PCR a tiempo real e investigar su prevalencia molecular en Lanzarote.

**Material y métodos:** La caracterización molecular del alelo mutado en los portadores de  $\beta$  talasemia se realizó con la técnica de PCR cuantitativa a tiempo real con el instrumento LightCycler (Roche Applied Science) empleando sondas de hibridación marcadas con fluorescencia para las cinco mutaciones más frecuentes en nuestro ámbito geográfico. En los casos en que no se identificó la lesión genética con el LightCycler<sup>TM</sup> se utilizó el análisis molecular por PCR-ARMS<sup>TM</sup> (Reacción en Cadena de la Polimerasa-Amplification Refractory Mutation System) y por secuenciación automática previa amplificación por PCR del gen  $\beta$ .

**Resultados:** De los 201 portadores se ha realizado el escrutinio de las mutaciones de  $\beta$  talasemia con la PCR a tiempo real con el sistema LightCycler<sup>TM</sup> a 197 (en cuatro no se obtuvo ADN para el análisis molecular). La PCR a tiempo real ha identificado cuatro mutaciones responsables del 85,6% de las alteraciones moleculares de la  $\beta$  talasemia. Mediante el sistema LightCycler<sup>TM</sup> las alteraciones moleculares con mayor incidencia fueron la CD39 (C $\rightarrow$ p T) con 99 alelos (50,2%), la IVS I-110 (G $\rightarrow$ p A) con 34 (17,2%), la IVS 1-nt-1 (G $\rightarrow$ p A) en 19 casos (9,6%) y la IVS 1-nt-6 (T $\rightarrow$ p C) en 17 (8,6%). En los 28 alelos (14,2%) en que no se identificó la alteración molecular por PCR a tiempo real se utilizó para la caracterización molecular las técnicas de PCR-ARMS<sup>TM</sup> y la secuenciación del gen  $\beta$  globina. El empleo de estas dos técnicas adicionales identificaron siete alteraciones moleculares adicionales (seis mutaciones y una delección). La PCR-ARMS<sup>TM</sup> detectó la delección de 619 pb y la CD 8/9 (+G) y la secuenciación del gen  $\beta$  de la globina por el método directo y reverso identificó una nueva mutación frameshift en los codones 20/21 por delección de cuatro pares de bases, las mutaciones del codon 22 (G $\rightarrow$ p T), del codon 51 (-C), del codon 24 (T $\rightarrow$ p A) y del promotor -28 (A $\rightarrow$ p G).

**Conclusiones:** A pesar de la alta heterogeneidad de la  $\beta$  talasemia heterocigota las cuatro mutaciones detectadas con la PCR a tiempo real constituyeron más del 85% del total de alteraciones genéticas. La distribución de las mutaciones en la población inmigrante fue diferente a la de los autóctonos de Lanzarote, y hasta en el 14% de los portadores sin origen familiar en Lanzarote se emplearon análisis moleculares con PCR-ARMS<sup>TM</sup> y secuenciación del gen  $\beta$  globina para poner de manifiesto las alteraciones moleculares de la  $\beta$  talasemia heterocigota.