

COMPARACIÓN DE TRES MÉTODOS PARA CUANTIFICACIÓN DE QUIMERISMO POST-TRASPLANTE ALOGÉNICO DE PROGENITORES HEMATOPOYÉTICOS

S. Grande^a, R. Ayala^a, D. Barroso^c, N. Sánchez-Hernández^c, A. Velasco^b, I. López Villar^a, A. Rivero^a, E. Fernández^a, I. Buño^c, J. Martínez-López^a.

S. Hematología H. Universitario 12 de Octubre^a, Carlos Haya^b y H.G.U. Gregorio Marañón^c

Objetivos: El objetivo de este estudio es la comparación de la sensibilidad y la precisión de tres métodos de cuantificación de quimerismo hematopoyético en trasplante de médula ósea: dos basados en PCR cuantitativa en tiempo real y otro en PCR múltiple de microsatélites (PCR-STR).

Pacientes y métodos: Se han estudiado 29 muestras de sangre periférica y médula ósea correspondientes a 10 pacientes sometidos a trasplante alogénico hematopoyético. La cuantificación del porcentaje de células de receptor se realizó sobre ADN genómico obtenido de muestras post-trasplante tomadas a diferentes tiempos: 1) SNP mediante PCR en tiempo real utilizando sondas TaqMan, realizando 14 PCRs distintas (S1a, S1b, S4a, S4b, S5a, S5b, S7a, S7b, S8a, S8b, S9a, S9b, S11a y S11b), 2) polimorfismos de inserción/delección mediante PCR en tiempo real utilizando sondas de Hibridación, realizando 7 PCRs distintas (GSTM, GSTT, SRY, Xq28, FVII, RhD y rs4399), 3) mediante PCR-STR con la amplificación de 11 microsatélites utilizando el kit AmpFISTR SGM Plus. La cuantificación del quimerismo se hizo utilizando curvas de sensibilidad en el caso de las sondas TaqMan y las sondas de Hibridación, y relativizando las áreas bajo los picos de donante y receptor sobre perfiles de fluorescencia obtenidos mediante electroforesis capilar. La comparación del porcentaje de quimera del receptor obtenido por los tres métodos se hizo por comparación de medias mediante la t de Student, el coeficiente de correlación de Pearson (r), graficas de Bland-Altman y gráficas de Passing- Bablok.

Resultados: Se realizaron curvas de sensibilidad en todos los polimorfismos estudiados por PCR cuantitativa en tiempo real, siendo la sensibilidad similar entre el 0,1% y 0,01%. La sensibilidad de la PCR-STR es del 1%. De las 29 muestras analizadas, 5 fueron negativas (quimerismo completo) para PCR-STR pero positivas por los dos métodos de PCR en tiempo real(% receptor<5). La correlación entre los métodos fue: 0.94 en TaqMan vs. STR, 0.97 en TaqMan vs. Hyb. y 0.97 en Hyb. vs. STR. Las gráficas de Bland-Altman y de Passing- Bablok mostraron una buena concordancia en la cuantificación de células de receptor entre los tres métodos.

Conclusiones: Si bien los tres métodos muestran una utilidad semejante para la cuantificación del quimerismo post-trasplante hematopoyético alogénico, son preferibles los métodos basados en PCR en tiempo real debido a su mayor sensibilidad.

Parcialmente financiado por Fundación Mutua Madrileña del Automóvil y el FIS (ISCIII).