

COMPARACIÓN DE DOS MÉTODOS DE PCR EN TIEMPO REAL PARA CUANTIFICACIÓN DE QUIMERISMO HEMATOPOYÉTICO

S. Grande^a, J. Martínez-López^a, R. Ayala^a, A. Jimenez-Velasco^b, J. de la Serna^a, A. Rivero^a, P. Martínez^a y F. Gilsanz^a

S. de Hematología. H Universitario 12 de Octubre^a y Carlos Haya^b.

Introducción: Hasta ahora se han propuesto dos métodos de PCR cuantitativa en tiempo real (PCRq) para el estudio del quimerismo hematopoyético. El primero está basado en la amplificación de polimorfismos de un o dos nucleótidos por PCR cuantitativo en tiempo real utilizando sondas TaqMan. Con este método se obtiene una sensibilidad de 10^{-3} . Una desventaja de este método es que, debido a la similitud entre los alelos, se puede obtener una amplificación no específica, lo cual reduciría la precisión en la cuantificación. El segundo método analiza mutaciones o polimorfismos de inserción/delección mediante el empleo de sondas de hibridación. La presencia de grandes secuencias insertadas y su baja competencia hace que no se produzca amplificación no específica. Por tanto, la ventaja de este método es la exclusión de amplificación no específica y una cuantificación mucho más exacta.

Objetivos: El objetivo de este estudio es la comparación de la sensibilidad y precisión de los dos métodos de PCRq anteriormente descritos para la cuantificación de quimerismo hematopoyético en trasplante hepático y en trasplante de médula ósea. Para ello se aplicaron ambos métodos en las mismas muestras, en distintos niveles de QH de donante y receptor.

Pacientes y métodos: *Pacientes:* Se han estudiado muestras de 5 pacientes, 3 sometidos a trasplante alogénico hematopoyético y 2 sometidos a trasplante hepático. *Métodos:* A partir de muestras de sangre periférica, de médula ósea y sueros congelados se extrajo DNA genómico. La cuantificación del porcentaje de células de donante en trasplante hepático y de receptor en trasplante de hematopoyético, en muestras post-trasplante tomadas a diferentes tiempos, se realizó: 1) mediante sondas TaqMan, realizando 8 PCRs distintas (S7a, S7b, S8a, S8b, S9a, S9b, S11a y S11b); 2) mediante sondas de Hibridación, realizando 4 PCRs distintas (GSTM, GSTT, SRY y Xq28). La cuantificación del quimerismo se hizo mediante PCRq en un termociclador Light Cycler 2.0. La comparación del porcentaje de células de donante o receptor obtenidas por ambos métodos se hizo por comparación de medias mediante la t de Student y el coeficiente de correlación de Pearson (r).

Resultados: Se realizaron curvas de sensibilidad para los 10 polimorfismos estudiados siendo la sensibilidad entre el 0,1% y 0,01%, independientemente de la metodología empleada. En ninguna de las muestras estudiadas por ambos métodos se detectaron casos de Falsos positivos. En total se estudiaron 34 muestras de los 5 pacientes, se ha obtenido una correlación de 0,971 entre ambos métodos.

Conclusiones: Nuestros resultados muestran una utilidad semejante de ambos métodos de PCRq, para la cuantificación de quimerismo hematopoyético.

Parcialmente financiado por Fundación Mutua Madrileña del Automóvil.