

ESTANDARIZACIÓN A NIVEL NACIONAL DE LA CUANTIFICACIÓN DEL REORDENAMIENTO BCR-ABL P210 MEDIANTE PCR EN TIEMPO REAL

J. Martínez-López, A. Jiménez, P. Bolufer, M.T. Gómez-Casares, B. Bellosillo, F. Barros, M.J. Larrayoz, J. Nondedeu, L. Hermosin, M.D. de Juan, J. Roman, I. Buño, J.A. García-Marco, M.A. Piñan, M. González y D. Colomer

Grupo de Biología Molecular de la AEHH.

Objetivo: Estandarización de la técnica de cuantificación del transcrito BCR-ABL p210 mediante PCR en tiempo real, para el seguimiento molecular de los enfermos con LMC en tratamiento con inhibidores Tirocin Quinasa.

Material y métodos: Participan 44 laboratorios pertenecientes al estado español con infraestructuras y tecnología adecuadas para la realización de PCR en tiempo real. De estos 44 laboratorios, 20 disponen de la tecnología Light Cycler (Roche), 25 de la tecnología de ABI-Prism (Applied Biosystems) y uno de la tecnología de SmartCycler (Biorad). Se han analizado los transcritos BCR-ABL p210 y los controles endógenos ABL y Beta-Glucuronidasa (GUS), utilizando todos los grupos el protocolo recomendado de la asociación europea contra el cáncer (EAC Leukemia 2003, 17 2318-2357).

Resultados: Se ha realizado una cuantificación absoluta empleando plásmidos comerciales correspondientes a cada transcrito, se crearon las curvas patrón y se generaron rectas estándar para cada transcrito. En el momento actual se dispone de los resultados de 32 laboratorios: 18 de ellos se han analizado con el sistema Light Cycler y 16 con el sistema ABI Prism. Mediante ambas plataformas se han obtenido resultados similares, estos se detallan en la tabla:

	BCR-ABL	ABL	GUS			
	LC	ABI	LC	ABI	LC	ABI
Pendiente	3,56	3,51	3,69	3,61	3,36	3,59
Término independiente	39,87	38,36	41,01	38,56	40,00	37,45
Coefficiente correlacion	0,999	0,991	0,997	0,999	0,999	0,995

Todos los laboratorios han obtenido resultados considerados óptimos para la cuantificación del gen BCR-ABL (pendiente comprendida entre 3,2 y 3,7). Comparando las dos plataformas mas utilizadas, la plataforma Light Cycler es menos sensible que Abi Prism (siempre se detecta un valor mayor en el término independiente de la recta estándar). En estos momentos cada laboratorio está analizando 3 muestras de pacientes de LMC al diagnóstico a los 3 meses y al año del tratamiento con Imatinib. Los resultados obtenidos en las muestras al diagnóstico serán útiles para poder desarrollar un valor de referencia, que pueda ser de utilidad en todos los laboratorios españoles. De esta manera, tal como recomiendan las últimas guías publicadas (Blood mayo 2006 pubahead), todos los laboratorios españoles podremos expresar los resultados en función del factor de corrección permitiendo comparar entre laboratorios los niveles de bcr/abl. Los resultados a 3 meses y 12 meses nos permitirán conocer la cinética de disminución del número de copias BCR-ABL.

Conclusiones: Si se emplea la misma metodología y los resultados se expresan de la misma forma los resultados de cuantificación de BCR-ABL p210 son equiparables en los laboratorios que han participado en este estudio. Las diferencias observadas entre plataformas no tienen repercusión en los resultados.