

ESTUDIO MUTACIONAL DE LA BETA TALASEMIA EN EL ÁREA SANITARIA DE CATALUÑA

M. Mañú Pereira^a, A. Cabot^b, E. Sitjà^a, J.L. Vives Corrons^a

^aUnidad de Eritropatología. CDB-IDIBAPS. Hospital Clínic i Provincial de Barcelona. ^bServicio de Pediatría. Hospital de Mataró (Barcelona)

Introducción: La β -talasemia resulta de la disminución de la síntesis de cadena β -globina. En el mediterráneo, 8 mutaciones son responsables del 90% de las β -talasemias, sin embargo en los últimos años diversos estudios muestran el incremento en frecuencia de nuevas mutaciones. El objetivo del estudio es identificar mutaciones prevalentes en nuestra área sanitaria de influencia.

Metodología: Se incluyen 71 pacientes referidos por microcitosis no ferropénica con o sin anemia. 48 de origen español, 8 árabe, 7 subsahariano, 5 egipcio, 2 chino y 1 ruso. Se estudiaron las 8 mutaciones más frecuentes en el área mediterránea: CD39 C-T, IVS1:110 G-A, IVS1:6 T-C, IVS1:1 G-A, IVS2:745 C-G, IVS2:1 G-A, -87 C-G, y CD6-A. Posteriormente, en los casos negativos, se secuenció la región exónica del gen de la beta globina (ABI PRISM 377 DNA sequencer). La mezcla de reacción se realizó en un volumen final de 25 μ L usando Taq polimerasa 2.0 U, Tampon 10X 2,5 μ L, primer 0.64 μ mol/ml (Tabla 1), dNTP 0.8 mmol/L, Cl_2Mg 1.5 mmol/L y 240 ng de ADN. Condiciones de amplificación: 35 ciclos: 45" 94°C, 45" 57°C, 45" 72°C.

Tabla 1

EXON	FORWARD PRIMER	REVERSE PRIMER
1	5' CATCTATTGCTTACATTTGCTTCT 3'	5' GTCTCCACATGCCCAGTTTCTAT 3'
2	5' CTCTTGGGTTCTGATAGGCACTG 3'	5' AAGAAGGGGAAAGAAAACATCAAG 3'
3	5' AAGGCTGGATTATTCTGA 3'	5' TGCACTGACCTCCACAT 3'

Resultados: En 47 de los 71 casos se identificó una de las 8 mutaciones más frecuentes. En 18 de los 24 pacientes restantes se completó la secuenciación directa del gen de la beta globina, en 6 casos no fue posible la obtención de una segunda muestra biológica. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 2:

Análisis de las mutaciones más frecuentes en el área mediterránea

CD39 C-T	IVS1:110 G-A	IVS1:6 T-C	IVS1:1 G-A	IVS2:745 C-G	IVS2:1 G-A	-87 C-G	CD6-A
17	6	11	10	1	0	1	1

Secuenciación directa de la región exónica de la beta globina

CD 6-AA**	CD8-AA	CD9 +G	IVS1:5 G-C	CD37 G-A	CD39 C-T	CD41-42 -CTTT**	NIM*
2	3	1	2	1	1	2	6

*NIM: no se identifica mutación. ** Mutaciones no descritas previamente.

Conclusiones: El análisis de las mutaciones más frecuentes del área mediterránea ha permitido identificar la mutación causante de β -talasemia en el 66% de los casos. La secuenciación nos ha permitido identificar mutaciones como la CD 8 -AA y IVS1:5 G-C que constituyen la sexta y séptima mutación más frecuente en nuestro estudio. Además, ha sido posible la identificación de dos mutaciones no descritas anteriormente; CD6 -AA (origen español) y CD41-42 -CTTT (origen asiático). En 6 casos, 4 de ellos de origen subsahariano, no se ha identificado la mutación responsable, por lo que posiblemente ésta se encuentre en una región reguladora de la expresión del gen. Los resultados muestran una importante variación en el mapa genético de la β -talasemia, debido en parte al efecto de la inmigración. Este hecho debe tenerse en cuenta para realizar un adecuado diagnóstico molecular de síndromes talasémicos y dobles heterocigotos S/beta talasemia, y un posible consejo genético y diagnóstico prenatal.