

## ANÁLISIS POR MLPA DEL CLÚSTER BETA DE GLOBINAS: IDENTIFICACIÓN DE 10 ALTERACIONES DISTINTAS EN POBLACIÓN ESPAÑOLA

J. Martínez-Nieto, P. Ropero, F.A. González, F. de la Fuente, L. Vinuesa, A. Villegas, E. Anguita, C. Seri, B. Pérez, E. Fontanes, J. Díaz-Mediavilla

*Servicio de Hematología y Hemoterapia. Hospital Clínico San Carlos. Madrid*

**Fundamentos:** Las alteraciones genéticas en el clúster  $\beta$  de globinas pueden producir desórdenes como persistencia hereditaria de hemoglobina fetal (HPFH),  $\delta\beta$ -talasemia o  $\beta$ -talasemia. Secuenciar los genes de globina es el método idóneo para detectar pequeñas alteraciones dentro de estos genes. No obstante, las grandes deleciones son eventos relativamente comunes que causan enfermedad, por lo que existen métodos basados en PCR diseñados para identificar las deleciones más comunes. Sin embargo, estas técnicas no pueden ser usadas para la detección de alteraciones no caracterizadas previamente, por lo que puede ser difícil el diagnóstico molecular de una proporción considerable de casos. Recientemente, la técnica amplificación multisonda dependiente de la ligación (MLPA) ha resuelto este problema, siendo ahora posible una identificación rápida de cualquier variación en el número de copia dentro del clúster  $\beta$ .

**Objetivo:** Exposición de los resultados del análisis por MLPA de una serie de casos en los que se sospechaba de la presencia de reordenamientos genéticos en el clúster  $\beta$ .

**Pacientes y métodos:** Este estudio incluye 56 pacientes con fenotipo de HPFH,  $\delta\beta$ -talasemia o  $\beta$ -talasemia. En algunos casos se han analizado pacientes cuyo fenotipo no era el esperado según los resultados de las pruebas genéticas previas. El MLPA se basa en la amplificación y en el posterior análisis de una serie de sondas que hibridan a lo largo de una región cromosómica. Estas sondas solo amplifican cuando el ADN diana está presente en el genoma del paciente, lo que en última instancia permite detectar deleciones o duplicaciones que afectan a las secuencias diana seleccionadas. Aquí se ha utilizado un conjunto de 28 sondas diseñadas para identificar alteraciones en el clúster  $\beta$ , desde el LCR hasta 10 kb 3' del gen  $\beta$ .

**Resultados:** El 80% de los pacientes (n=45) son portadores de un reordenamiento que afecta al clúster  $\beta$ . En este estudio se han detectado 10 alteraciones diferentes, 7 de ellas se han detectado en un único caso cada una. La alteración encontrada a mayor frecuencia ha sido la deleción  $\delta\beta$  Spanish, con un total de 33 casos heterocigotos y un homocigoto. 11 pacientes han mostrado un perfil genético normal.

**Discusión:** Los resultados apuntan hacia la existencia de una gran heterogeneidad genética en las deleciones causantes de este grupo de enfermedades. La mayoría de las alteraciones detectadas se han dado en un solo caso, y al menos 3 de ellas no se encuentran descritas en la literatura científica. En este contexto, el MLPA se convierte en un solo caso, y al menos 3 de ellas no se encuentran descritas en la literatura científica. En este contexto, el MLPA se convierte en una herramienta necesaria para el diagnóstico, especialmente cuando se aplica al consejo genético y al diagnóstico prenatal.

Tabla 1. Resumen de resultados

Nº Caso	Hb g/dl	MCV fL	RDW	HbF %	HbA2 %	Perfil MLPA	Otras mutaciones
Normal							
1 a 11							
12	11,4	61,2	24,2	2,4	1,9	Duplic. $\gamma$ . Sondas 12-13	—
13	11,5	85	14,2	4,6	2,4	Duplic. $\gamma$ . Sondas 12-13	—
14	10,7	59,3	17,5	5,1	3	Deleción heterocigota. Cluster HBB. Sondas 2-28	—
15	12,2	61,8	17,3	2,5	4	Delec. het LCR+ $\alpha$ . Sondas 2-10	—
16	11,9	70,5	17,8	40	1,95	Delec. het ( $\gamma\delta\beta$ ) $\gamma$ . Sondas 15-27	—
17	12,3	74,9	16,1	39	1,7	Delec. het. ( $\gamma\delta\beta$ ) $\gamma$ . Sondas 15-28	—
18	15,1	89	14,8	32,8	2	Delec. het. ( $\delta\beta$ ) $\gamma$ . Sondas 16-28	—
19*	10,9	89,8	21,2	48	2,7	Delec. het. ( $\delta\beta$ ) $\gamma$ . Sondas 17-27	$\beta^{+100}$
20 a 51	9,3 - 14,6	59,1 - 75,3	16,1 - 28,5	1,5 - 26	1,51 - 3,2	Delec. het. ( $\delta\beta$ ) $\gamma$ . Sondas 17-28	—
52*	6,7	82,4	24	40	0,5	Delec. hom. ( $\delta\beta$ ) $\gamma$ . Sondas 17-28	—
53*	9,8	86	18,8	20	2,9	Delec. het. ( $\delta\beta$ ) $\gamma$ . Sondas 17-28	$\beta^{+100}$
54	13	71,1	22,9	15	4	Delec. het. $\beta$ $\gamma$ . Sondas 19-28	—
55	11,2	64,1	17,5	1,9	5	Delec. het. $\beta$ $\gamma$ . Sondas 19-28	—
56	10,6	80	20,3	29,6	4,5	Delec. het. $\beta$ $\gamma$ . Sondas 25-27	HbS

\* Transfundidos