



Fundación JL Castaño
SEQC

SEQC^{ML}

Sociedad Española de Medicina de Laboratorio

2018-2019

CURSO DE EDUCACIÓN CONTINUADA EN EL LABORATORIO CLÍNICO

Ed. Cont. Lab. Clin 38: 28 - 44

BIOLOGÍA MOLECULAR EN EL DIAGNÓSTICO DE LAS HEMOGLOBINOPATÍAS.

María del Mar Mañú Pereira.

1 Centro de enfermedades raras. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Vall d'Hebron Institut de Recerca. Vall d'Hebron. Barcelona Hospital Campus.

David Beneitez Pastor.

Unidad de Eritropatología y Patología Congénita de Serie Roja. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Vall d'Hebron. Barcelona Hospital Campus.

Adoración Blanco.

Unidad de Genética Molecular Hematológica, Sección de Diagnóstico Hematológico, Servicio de Hematología. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Vall d'Hebron. Barcelona Hospital Campus.

La Hemoglobina

La hemoglobina (Hb) es el componente mayoritario de los eritrocitos maduros y su función principal es la respiratoria. Además, gracias a su capacidad amortiguadora interviene también en la regulación del pH sanguíneo. La Hb está formada por cuatro subunidades proteicas, las globinas, con un grupo hemo en cada una de ellas. Existen seis tipos de cadena de globina que se dividen en los dos grupos siguientes: 1) cadenas de tipo α (ζ y α), y 2) cadenas de tipo β (ϵ , γ , δ y β).

Las cadenas de cada tipo α y tipo β están codificadas por clústeres genéticos independientes, pero con regulación de la expresión de forma coordinada para asegurar una producción equivalente de ambos tipos de cadenas. La agrupación de genes o clúster que codifica para las cadenas tipo α se encuentra en el cromosoma 16, mientras que el clúster que codifica para las cadenas tipo β se encuentra en el cromosoma 11 (Figura 1). La estructura de todos los genes que codifican para alguna de las cadenas de globina es similar presentando tres regiones exónicas cada uno de ellos.

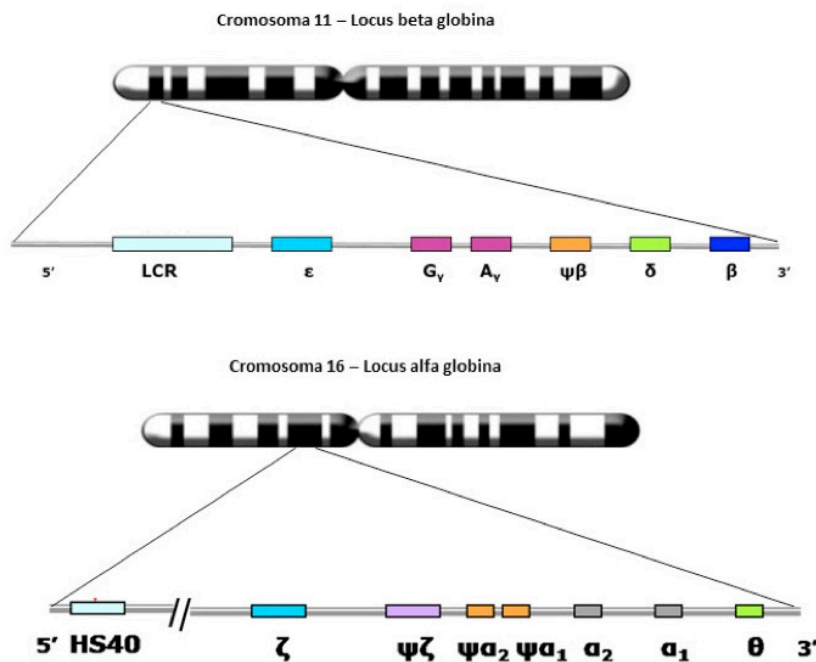


Figura 1: Clústeres tipo α y tipo β globina.

El conjunto de genes de las globinas tipo α está formado por un gen embrionario (ζ_2) dos genes fetales/adultos (α_2 y α_1), varios seudogenes ($\psi \zeta_1$, $\psi \alpha_2$ y $\psi \alpha_1$) y un gen de función indeterminada (θ_1) dispuestos en el siguiente orden: telómero- ζ_2 - $\psi \zeta_1$ - $\psi \alpha_2$ - $\psi \alpha_1$ - α_2 - α_1 - θ_1 -centrómero (Figura 1). Los dos genes estructurales α_2 y α_1 presentan una gran homología y ambos codifican para la cadena α globina, si bien la expresión de α_2 es significativamente superior a la de α_1 .

El conjunto de genes de las globinas tipo β está formado por un gen embrionario (ε), dos genes fetales (G_γ y A_γ), dos genes adultos (δ y β) y un seudogen (ψ β) dispuestos en el siguiente orden: telómero- LCR-ε-G_γ-A_γ-ψβ-δ-β-centrómero. (Figura 1)

Síntesis de la Hemoglobina durante el desarrollo

Como resultado de la síntesis de las diferentes cadenas de globina en los diferentes estadios de la vida, existen diferencias en el tipo de hemoglobina (Hb) que encontraremos en los glóbulos rojos entre la etapa adulta y el período fetal y neonatal. En la etapa adulta, la HbA constituye entre el 96% y el 98% de la Hb total, la HbA₂ constituye entre el 2,0 % y 3,5 % y la Hb Fetal constituye menos del 2 % de la Hb total. En cambio, en el recién nacido aproximadamente el 80 % de su hemoglobina está constituida por Hb Fetal, la HbA constituye un 20 % del total y la HbA₂ menos del 1 %. Sin embargo, tras el momento del nacimiento, el incremento en la síntesis de cadena β y la disminución de cadena γ, harán que el recién nacido presente porcentajes de hemoglobina idénticos a los de la etapa adulta en el primer año de vida (Tabla 1).

Edad	HbA ₂ (%)	HbF (%)	HbA (%)
Nacimiento	0,4	65,1	34,5
3 meses	1,7	18,1	80,2
6 meses	2,5	3,2	94,3
9-10 meses	2,5	2,6	94,9
1 año	2,5	1,4	96,1

Tabla 1: Valores de HbA₂, HbF y HbA durante el primer año de vida.
Adaptada de Mosca et al 2009.

Hemoglobinopatías

Las hemoglobinopatías constituyen un grupo muy heterogéneo de enfermedades hereditarias autosómicas, mayoritariamente recesivas, debidas a una alteración en la síntesis de las cadenas de globina que forman la hemoglobina (Hb) por mutaciones puntuales, inserciones o deleciones en los genes que las codifican. De forma que cuando esta alteración es cualitativa por un cambio de aminoácido o aminoácidos en la estructura de la cadena se denominan hemoglobinopatías estructurales y cuando es cuantitativa, porque existe una disminución o ausencia de una o más cadenas de globina, se denominan talasemias. También existe un tercer grupo conocido como hemoglobinopatías talasémicas, en el que se combina el efecto cualitativo y cuantitativo, es decir se produce menos cantidad de una Hb estructuralmente anómala.

Las formas más graves, los síndromes talasémicos y la enfermedad de células falciformes (ECF), constituyen las enfermedades hereditarias monogénicas más comunes en el mundo y son la causa del mayor problema de salud pública en regiones como el Sudeste Asiático, Oriente Medio, Mediterráneo, Subcontinente Indio, África y el Caribe. Aproximadamente, 250 millones de personas (más del 4,5 % de la población mundial) son potencialmente portadores de una hemoglobina patológica, y unos 300.000 niños/as nacen cada año con importantes trastornos hemoglobínicos, de los cuales los más comunes son los síndromes falciformes y los síndromes talasémicos.

Síndromes talasémicos

La talasemia constituye un grupo heterogéneo de defectos congénitos de la hemoglobina con expresividad clínica variable. Obedece a mutaciones puntuales o deleciones de los genes de las globinas que provocan la ausencia o disminución de la síntesis de las cadenas de globina normales. En los síndromes talasémicos, la disminución en la síntesis de un tipo de cadena globínica conduce a un desequilibrio en la síntesis de las cadenas, con un exceso de la síntesis de una de las cadenas normales que contribuye a los efectos patológicos asociados, causando tanto daño en los precursores eritroides y una eritropoyesis inefectiva, como daño en los eritrocitos maduros y una anemia hemolítica. Los principales tipos de talasemia clasificados de acuerdo a su genotipo se muestran en la tabla 2. La disminución de la sín-

tesis de cadena α se denomina α -talasemia, la de cadenas β , β -talasemia, la de cadenas β y δ , $\delta\beta$ -talasemia, etc. La talasemia es el resultado de la delección de una gran parte o de todo un gen, como es habitual en la α -talasemia y $\delta\beta$ -talasemia, o bien de pequeñas delecciones u otras mutaciones puntuales, como es habitual en la β -talasemia. Se han descrito casi 500 mutaciones responsables de talasemia, las mutaciones en los genes α o β presentan potencialmente una repercusión clínica, ya que tienen como consecuencia la reducción de la hemoglobina A. Los síndromes graves aparecen normalmente sólo cuando están afectos los dos genes β , o bien tres o cuatro de los genes α . Las formas más estudiadas y clínicamente más importantes de talasemia son la α -talasemia, la β -talasemia, y la $\delta\beta$ -talasemia. Cada una de ellas puede clasificarse a su vez según si existe una síntesis deficiente o parcial de la cadena de globina afectada (α^+ , β^+ , $\delta\beta^+$) o una ausencia total de síntesis de la misma (α^0 , β^0 , $\delta\beta^0$).

Tipo de talasemia	Cadena afectada	Hemoglobina con síntesis reducida
Alpha: α^0 o α^+	α	A, A_2 y F
B: β^0 o β^+	β	A
Gamma: γ	γ	F
Delta: δ^0 o δ^+	δ	A_2
Delta β : $\delta\beta^0$ o $\delta\beta^+$	δ y β	A y A_2
Δ Gamma delta β : $\Delta\gamma\delta\beta^0$	$\Delta\gamma$, δ y β	A y A_2
Epsilon gamma delta β^* : $\epsilon^G\gamma^A\gamma\delta\beta^0$	ϵ , ϵ^G , $\Delta\gamma$, δ y β	A, A_2 y F*
Hemoglobina Lepore	δ y β	A y A_2

Tabla 2: Clasificación de las talasemias.

* También llamada $\gamma\delta\beta$ talasemia: en el periodo fetal, hay una reducción en la síntesis de las hemoglobinas Gower 1 y 2 y Portland 1.

Desde el punto de vista clínico las talasemias se dividen según su expresividad en portador silente, talasemia menor, talasemia intermedia y talasemia mayor. La talasemia mayor constituye la forma más grave de la enfermedad y se caracteriza por presentar un requerimiento de transfusión sanguínea crónica de por vida. La talasemia intermedia constituye un grupo heterogéneo con manifestaciones clínicas variables desde casos con anemia moderada hasta cuadros clínicos algo menores que la talasemia mayor con necesidades transfusionales ocasionales. La talasemia menor o rasgo talasémico corresponde a los portadores asintomáticos de la enfermedad los cuales se identifican por presentar un hemograma alterado con un elevado número de hematies microcíticos e hipocromía. Finalmente, conocemos como talasemias silentes aquellos portadores asintomáticos en los que la reducción de síntesis de cadena globínica es tan baja que no llega a alterar los índices eritrocitarios.

En el caso de la α talasemia, generalmente la correlación genotipo-expresión clínica es la siguiente:

- a) Las formas silentes se asocian a genotipos heterocigotos para mutaciones α^+ , pérdida de un gen α -globina.
- b) El rasgo talasémico se asocia a genotipos homocigotos para mutaciones α^+ o heterocigotos para mutaciones α^0 , pérdida de dos genes α -globina.
- c) La α -talasemia intermedia, conocida como enfermedad de la Hb H (tetrámeros de cadena β -globina en exceso), se asocia a genotipos doble heterocigotos para una mutación α^+ y una α^0 , pérdida de tres genes α -globina.
- d) La α -talasemia mayor, conocida como Hidropesía fetal por Hb Bart (tetrámeros de cadena γ globina en exceso), se asocia a genotipos homocigotos para mutaciones α^0 , pérdida de cuatro genes α globina.

De manera similar, en la β -talasemia:

- a) Las formas silentes se asocian a mutaciones β^+ en estado heterocigoto.
- b) La β -talasemia minor suele ir asociada a mutaciones β^+ o β^0 en estado heterocigoto.
- c) La β -talasemia intermedia se asocia mayoritariamente a homocigotos β^+ o doble heterocigotos β^+ y β^0 , doble heterocigotos β^+ o β^0 y $\delta\beta^0$ talasemia, o más excepcionalmente a genotipos heterocigotos β^0 afectados por mutaciones responsables de cadena β -globina hiperinestable o asociados a una triplicación de los genes α -globina.
- d) La talasemia mayor se asocia a genotipos homocigotos de mutaciones β^0 .

Hemoglobinopatías estructurales

Las hemoglobinopatías estructurales obedecen a una alteración en la secuencia de aminoácidos de una de las cadenas de globina; α , β , σ , o γ . La consecuencia de la cual puede ser una alteración en la estabilidad (hemoglobinopatías inestables), solubilidad y función (afinidad por el oxígeno) de la molécula de Hb, que determinará las distintas manifestaciones clínicas de las hemoglobinopatías. Se han descrito más de 1300 variantes, la mayoría son variantes asintomáticas de la Hb A, que pueden afectar a la cadena α o β globina. Las hemoglobinopatías estructurales más frecuentes y con mayor significado clínico son las que afectan al gen HBB responsable de cadena β -globina; hemoglobinopatía S (HBB:c.20A>T), la hemoglobinopatía C (HBB:c.19G>A), la hemoglobinopatía D (HBB:c.364G>C) y la hemoglobinopatía E (HBB:c.79G>A).

Enfermedad de células falciformes (ECF)

Actualmente la Enfermedad de células falciformes (ECF), también conocida como síndrome falciforme o drepanocítico, constituye en España la anemia hereditaria con mayor impacto sanitario tanto por el incremento en su prevalencia como consecuencia de las recurrentes

migraciones especialmente del continente africano, como por sus manifestaciones clínicas asociadas (5, 6, 7). Según datos del año 2016 del registro nacional pediátrico de pacientes con hemoglobinopatías, de 715 pacientes registrados, 615 presentaban ECF. La mayoría de estos pacientes (65 %) constituían la primera generación de hijos de inmigrantes ya nacidos en España, y el 51 % de los casos se habían diagnosticado a través de los programas de detección precoz neonatal. La ECF se caracteriza por la presencia de hemoglobina S (HbS), denominada así por la característica forma de hoz (*sickle*) que adoptan los eritrocitos cuando disminuyen su oxigenación (Figura 2), en ausencia parcial o total de hemoglobina A (HbA), como consecuencia de mutaciones que afectan al gen de la β -globina. La aparición de los primeros síntomas es siempre después de los primeros tres meses de vida debido al efecto protector de la HbF durante el período neonatal. La ECF está asociada a una extrema heterogeneidad en sus manifestaciones clínicas como consecuencia de dos factores: la hemólisis crónica, a la cual se suman los efectos de las crisis vaso-oclusivas, características de esta enfermedad por bloqueo del riego sanguíneo debido a la presencia de hematíes falciformes rígidos.

El grado de componente hemolítico o componente vaso-oclusivo varía entre los pacientes de ECF. Tradicionalmente se conocen dos modificadores principales claramente modulando la expresión clínica de la ECF, la capacidad innata del paciente para producir HbF y la coexistencia con α -talasemia. Sin embargo, es muy improbable que estos sean los únicos modificadores principales del fenotipo. Las nuevas técnicas de secuenciación masiva y estudios de asociación han conducido a la identificación de variantes genéticas que potencialmente estarían modulando la expresión clínica de la ECF.

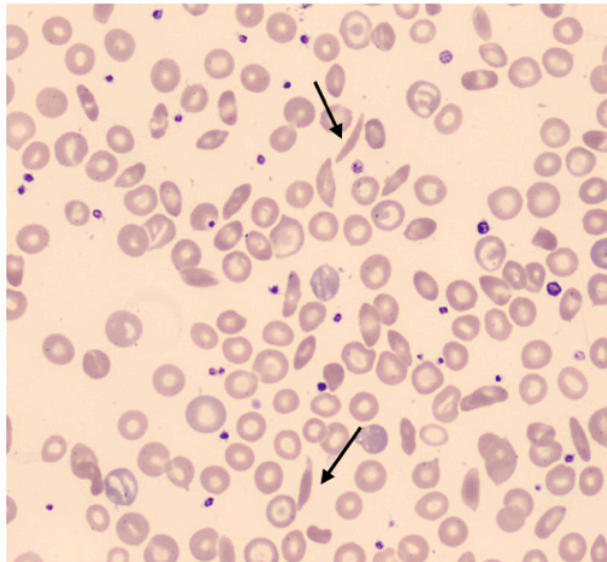


Figura 2: Extensión de sangre periférica con presencia de células falciformes.

Desde el punto de vista molecular, la HbS es el resultado de la sustitución de timina (T) por adenina (A) a nivel del codón 6 del gen de la β -globina, con sustitución del ácido glutámico (Glu) por una Valina (Val): ($\beta 6(A3)$ Glu-Val). El estado homocigoto de la hemoglobina

S es lo que conocemos como anemia de células falciformes (ACF), sin embargo, existen una serie de síndromes donde la HbS se combina con otras hemoglobinopatías o genes talasémicos dando lugar a lo que conocemos como síndromes falciformes o drepanocíticos, conjuntamente nos referimos a ECF. Los principales genotipos asociados a la ECF, así como su fenotipo y gravedad clínica correspondiente se muestran en la Tabla 3. La forma heterocigota o rasgo falciforme, aparece por lo tanto cuando la mutación afecta a uno solo de los alelos que codifican la cadena de la β -globina, con genotipo $\beta / \beta S$. En este caso el individuo presenta un % relativo de HbS respecto a la HbA de alrededor del 40 % y no presenta manifestaciones clínicas. Cabe destacar que la presencia de α talasemia es altamente frecuente en las poblaciones de riesgo para la ECF por lo que es bastante habitual encontrar la HbS en estado heterocigoto asociada a un gen α -talasémico.

Principales genotipos asociados a la ECF		
Genotipo	Patrón de Hb	Gravedad clínica
Homocigoto S	S/S	Grave
Doble heterocigoto S/C	S/C	Moderado
Doble heterocigoto S/D	S/D	Grave
Doble heterocigoto S/ β 0 talasemia	S/-	Grave
Doble heterocigoto S/ β + talasemia	S/A (S>>A)	Moderado
Doble heterocigoto S/delta β 0 talasemia	S/-	Moderado
Doble heterocigoto S/X-variante Hb cadena β globina	S/X	Leve a grave según HbX
Doble heterocigoto S/Persistencia de la Hb Fetal	S/-	Leve

Tabla 3: Principales genotipos asociados a la ECF, fenotipo y gravedad clínica.

(GenHem App. Manual práctico de Genética Hematológica. Editores: Asociación Española de Genética Humana.)

Otras hemoglobinopatías estructurales

Además de la ECF y otras hemoglobinopatías estructurales, existen dos grupos de hemoglobinopatías, no tan conocido dada su baja prevalencia, pero que también es necesario mencionar, las hemoglobinopatías conocidas como inestables y las hemoglobinopatías con afinidad alterada por el oxígeno.

Las hemoglobinopatías inestables obedecen a mutaciones que desestabilizan la molécula de Hb facilitando su desnaturalización y la formación de precipitados intraeritrocitarios. A diferencia que la ECF o los síndromes talasémicos, su patrón de herencia es autosómico dominante y es responsable de una reducción de la vida media del eritrocito y una anemia hemolítica crónica de intensidad variable, con crisis de agudización en procesos infecciosos febriles y/o tras la ingesta de medicamentos oxidantes. Se han descrito hasta 151 mutaciones en los genes *HBA1* y *HBA2* (α -globina) y *HBB* (β -globina), responsables de hemoglobinopatías inestables. Las mutaciones "de novo" son relativamente frecuentes. Algunos ejemplos son la Hb Köln (*HBB* c.295G>A) o la Hb Newcastle (*HBB* c.278A>C) con expresión clínica leve o la Hb Hammersmith (*HBB* c.128T>C) con expresión clínica grave. Las hemog-

lobinopatías de alta o baja afinidad son debidas a mutaciones que afectan a regiones de la molécula relacionadas con los cambios conformacionales que se producen en el proceso de fijación reversible del oxígeno. Las más frecuentes son las hemoglobinas con alta afinidad por el oxígeno que cursan con una eritrocitosis como consecuencia de la hipoxia tisular, como la Hb Barcelona *HBB* c.283G>C. En el caso contrario, hemoglobinas de baja afinidad, se produce una disminución en el número de hematíes y de la concentración de hemoglobina (falsa anemia), como en el caso de la Hb Vigo *HBB* c.200A>T. Las hemoglobinas M la mutación tiene como efecto la estabilización de forma permanente de el hierro en estado oxidado de los grupos hemo de la hemoglobina, impidiendo la fijación reversible del oxígeno molecular. Su presencia en la sangre va acompañada de metahemoglobinemia y cianosis. Algunos ejemplos son la Hb Chile *HBB*:c.85C>A o la Hb Auckland *HBA2*:c.262C>A (o *HBA1*).

Diagnóstico genético de las Hemoglobinopatías

Síndromes talasémicos

La distribución geográfica de las mutaciones causantes de talasemia es heterogénea, lo que significa que determinadas mutaciones son especialmente prevalentes en ciertas regiones geográficas, Figuras 3 y 4.

Como consecuencia, conocer el origen del paciente es de gran relevancia para asegurar un correcto diagnóstico genético, especialmente cuando se utilizan técnicas alelo específicas que no cubren el 100% de las mutaciones.

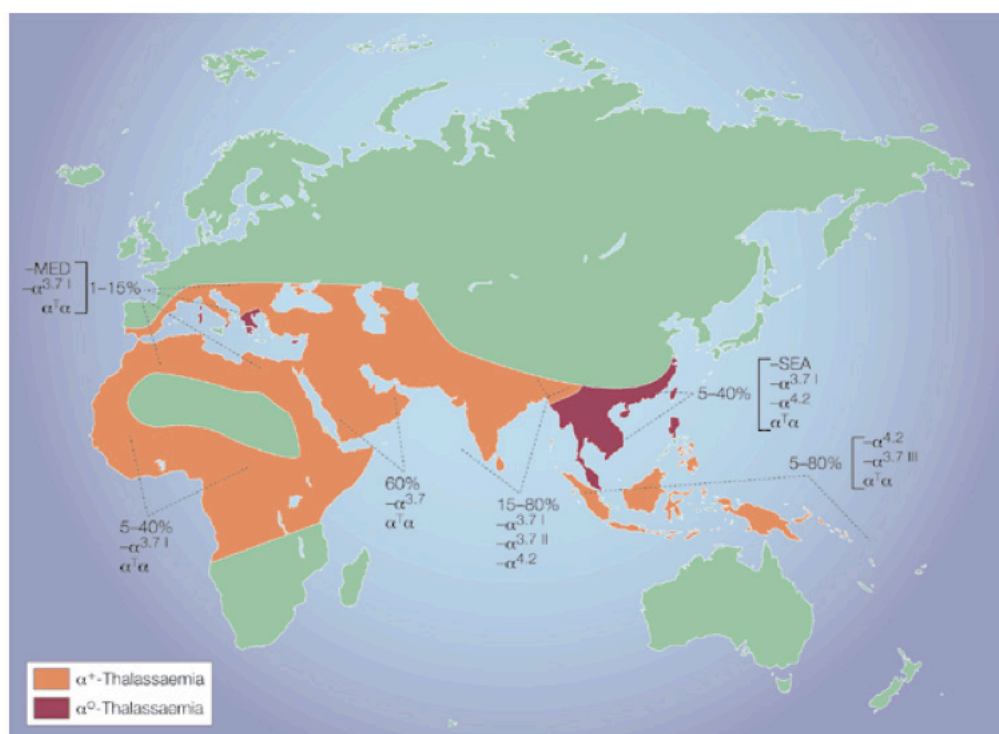


Figura 3: Distribución geográfica de las mutaciones responsables de α -talasemia.

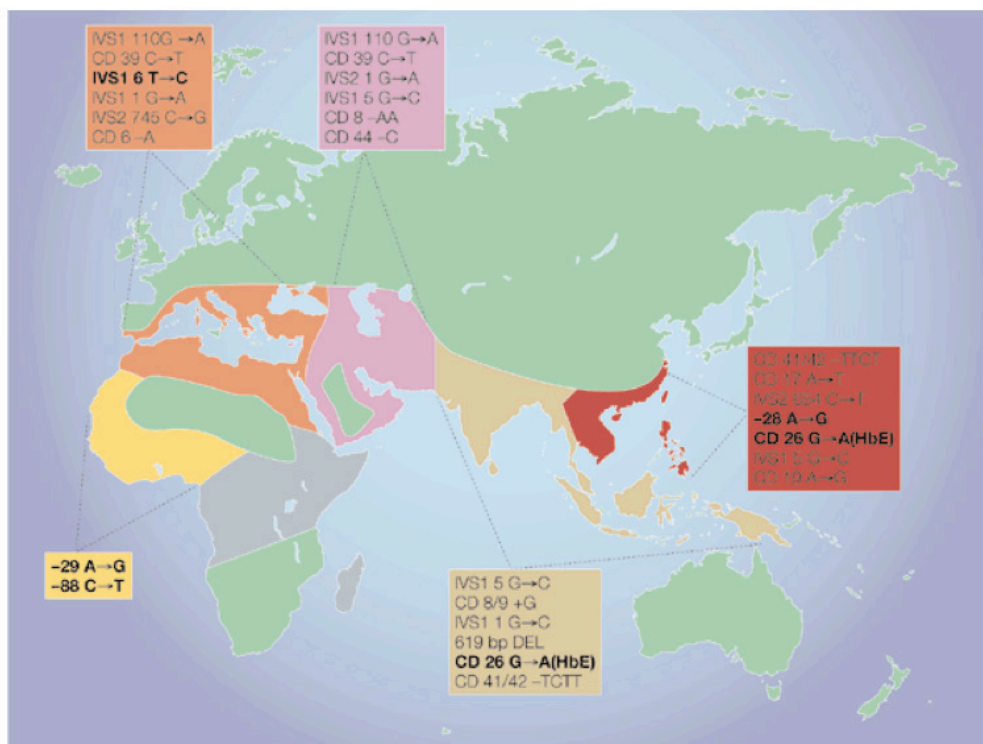


Figura 4: Distribución geográfica de las mutaciones responsables de β -talasemia.

D. J. Weatherall-Phenotype—genotype relationships in monogenic disease: lessons from the thalassaemias. *Nature Reviews Genetics* 2, 245-255 (April 2001).

Síndromes α -talasémicos

El mecanismo molecular de la α -talasemia es predominantemente delecional, es decir, se debe a grandes deleciones que afectan a un solo gen α globina, deleciones -3.7Kb y -4.2Kb, conocidas como mutaciones α^+ , o bien a ambos genes α globina, mutaciones -MED; -MEDII, -SEA; -FIL; -THAI; -20.5, DUTCH I, conocidas como mutaciones α^0 . Para la identificación de grandes deleciones se usan técnicas alelo específicas mediante GAP-PCR, múltiple o sencilla, o MLPA para cribado de grandes deleciones no conocidas. Sólo una minoría de las mismas se producen por mutaciones puntuales, La expresión de las α talasemias no deleción que afectan al gen $\alpha 2$ son más graves que las que afectan al gen $\alpha 1$ y a las α deleción, ya que el gen $\alpha 2$ se expresa entre 2-3 veces más que el gen $\alpha 1$. Las mutaciones α globina no delecionales pueden caracterizarse mediante secuenciación SANGER de las regiones promotora, exónicas e intrónicas flanqueantes de los genes $\alpha 1$ y $\alpha 2$ globina (HBA1 y HBA2) o mediante técnicas dirigidas a identificar mutaciones concretas como RFLP.

Síndromes β -talasémicos

El mecanismo molecular de la β -talasemia es predominantemente no delecional, es decir, se debe a mutaciones puntuales, bien por sustituciones de una única base nitrogenada o por deleciones o inserciones muy cortas que alteran la transcripción o la maduración del RNAm. Dentro de los síndromes β -talasémicos también podemos encontrar asociaciones entre genes β -talasémicos y genes $\delta\beta$ -talasémicos, como la Hb Lepore. Tradicionalmente,

ocho mutaciones se consideraban responsables de más del 90 % de las β -talasemias de la región mediterránea. Sin embargo, los flujos inmigratorios de las últimas décadas han hecho variar notablemente el mapa mutacional de la β -talasemia en España incrementando su heterogeneidad molecular. Como consecuencia, la técnica de elección actualmente para la identificación de mutaciones β -talasémicas es la secuenciación SANGER de las regiones promotora, exónicas e intrónicas flanqueantes del gen de la β globina HBB, desplazando a técnicas dirigidas a identificar mutaciones concretas como ARMS-PCR o RFLP. En el caso de utilizar técnicas alelo específicas, es importante conocer el origen étnico del paciente. También hay que considerar la presencia de grandes deleciones que afectan al gen de la β globina, o en mayor o menor medida al cluster β - globina, y que se encuentran en la base genética de la β talasemia. Las grandes deleciones conocidas más frecuentes son -619bp, $\delta\beta$ Spanish, HPFH-1, HPFH-2, HPFH-3, HPFH-7, Lepore. Como en el caso de la α -talasemia, para la identificación de grandes deleciones se usan técnicas alelo específicas mediante GAP-PCR, múltiple o sencilla, o MLPA para cribado de grandes deleciones no conocidas.

Hemoglobinopatías estructurales

La HbS, responsable de la ECF, así como la HbC, HbD y HbE se agrupan en el conjunto de hemoglobinopatías con alteración de carga superficial, las cuales se caracterizan por presentar cambios aminoacídicos en la superficie de la molécula con carga eléctrica diferente a la normal. Debido a ello este grupo de hemoglobinopatías pueden detectarse fácilmente en la práctica clínica mediante técnicas de fraccionamiento de hemoglobinas, como la Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) o la electroforesis capilar.

A pesar que el genotipo más frecuente es el estado homocigoto de la HbS, cabe destacar en el caso de identificación de parejas de riesgo, la combinación entre la HbS y la β -talasemia, defecto este último prevalente en el área mediterránea, y que tiene como consecuencia un síndrome de características clínicas con gravedad similar al homocigoto S. Los problemas diagnósticos en el caso de los síndromes falciformes aparecen cuando la hemoglobinopatía S se asocia a genes talasémicos u otras hemoglobinopatías estructurales que no pueden ser discriminados mediante el fraccionamiento de hemoglobinas, como es el caso del doble heterocigoto HbS/ β^0 talasemia que presenta el mismo patrón de hemoglobinas que el homocigoto S. En estos casos, se recomienda realizar siempre que sea posible el estudio familiar del paciente con el objetivo de separar los defectos genéticos y facilitar su identificación. A nivel genético el diagnóstico diferencial se puede realizar mediante la caracterización genética de los alelos implicados. Para la identificación de mutaciones puntuales responsables de la HbS, otras hemoglobinopatías estructurales frecuentes en el genotipo de la ECF, como la HbC o D, y mutaciones puntuales responsables de β - talasemia se utiliza la secuenciación SANGER de las regiones promotora, exónicas e intrónicas flanqueantes del gen de la β globina HBB, o bien técnicas alelo específicas como ARMS, RFLP o RT-PCR. Cabe destacar que, en ausencia de estudio familiar, la interpretación de los resultados obtenidos mediante ARMS, RFLP o RT-PCR debe tener en cuenta la posibilidad de falsos

positivos para la homocigosis de la HbS cuando ésta se encuentre combinada con un alelo HBB afectado por una β -talasemia que englobe el codón 6, o una gran deleción como en el caso de la $\delta\beta$ -talasemia o la persistencia hereditaria de la HbF. En el caso de usar la secuenciación SANGER discriminaríamos la presencia de mutaciones puntuales responsables de β -talasemia pero no la de grandes deleciones.

BIBLIOGRAFÍA

Aguilar Martínez P, Angastiniotis M, Eleftheriou A, Gulbis B, Mañú Pereira Mdel M, Petrova-Benedict R, Corrons JL. Haemoglobinopathies in Europe: health & migration policy perspectives. *Orphanet J Rare Dis.* 2014 Jul 1;9:97.

Bain BJ. Haemoglobinopathy diagnosis: algorithms, lessons and pitfalls. *Blood Rev.* 2011 Sep;25(5):205-13. PMID:21596464.

Cela E, Bellón JM, de la Cruz M, Beléndez C, Berruero R, Ruiz A, Elorza I, Díaz de Heredia C, Cervera A, Vallés G, Salinas JA, Coll MT, Bermúdez M, Prudencio M, Argilés B, Vecilla C. SEHOP-Hemoglobinopathies Study Group (Sociedad Española de Hematología y Oncología Pediátricas). National registry of hemoglobinopathies in Spain (REPHem). *Pediatr Blood Cancer.* 2016 Nov 2.

Harteveld CL, Higgs DR. Alpha-thalassaemia. *Orphanet J Rare Dis.* 2010 May 28;5:13. PMID:20507641.

Mañú Pereira M, Corrons JL. Neonatal haemoglobinopathy screening in Spain. *J Clin Pathol.* 2009 Jan;62(1):22-5. doi: 10.1136/jcp.2008.058834. Review.

Piel FB, Steinberg MH, Rees DC. Sickle Cell Disease. *N Engl J Med.* 2017 Apr 20;376(16):1561-1573. Review.

Ryan K, Bain BJ, Worthington D, James J, Plews D, Mason A, Roper D, Rees DC, de la Salle B, Streetly A. British Committee for Standards in Haematology. Significant haemoglobinopathies: guidelines for screening and diagnosis. *Br J Haematol.* 2010 Apr;149(1):35-49. PMID:20067565.

Thein S. Genetic association studies in β -hemoglobinopathies. *American Society of Hematology – Hematology* 2013: 354-361. PMID:24319204.

Thein S. The Molecular Basis of β -Thalassemia. *Cold Spring Harb Perspect Med.* May 1;3(5):1-24. 2013. PMID:23637309.

Weatherall, D.J. -Phenotype—genotype relationships in monogenic disease: lessons from the thalassaemias. *Nature Reviews Genetics* 2, 245-255 (April 2001)

HbVar. <<http://globin.bx.psu.edu/hbvar/menu.html>> (1/03/2018)

GenHem App. Manual práctico de Genética Hematológica. Editores: Asociación Española de Genética Humana. Capítulo 31: "Hemoglobinopatías y talasemias". Autores: **A. González, M. Mañú Pereira, C. Bento.**

EDUCACIÓN CONTINUADA EL EL LABORATORIO CLÍNICO COMITÉ DE EDUCACIÓN

D. Balsells, B. Battikhi, N. Giménez, A. Merino, A. Peña, N. Rico (*Presidenta*), M. Rodríguez, T. Rodríguez, P. Rodríguez, C. Sánchez, M. Serrando, MC. Villà, JA. Wong.

ISBN 978-84-09-02925-9 – Diciembre 2018 (recibido para publicación Junio 2018)