

Bases citogenéticas para la práctica hematológica

De lo supuesto a lo expuesto en nomenclatura citogenética

Silvia J Benasayag, María I. Gallino

Fundagen. CABA. Argentina.

Correspondencia a Dra. Silvia Benasayag, Echeverría 2182 PB 2 (cp. 1428),
Tel. 4788-9440, Correo electrónico: benasayag@fundagen.com.ar



REVISIÓN

Fecha de recepción: 17/06/10
Fecha de aprobación: 24/06/10

HEMATOLOGIA, Vol. 14 Nº 2: 58-68
Mayo-Agosto, 2010

RESUMEN

Los grandes avances de la oncohematología se deben en gran parte a la utilización de las técnicas de citogenética, estos estudios ayudan a establecer el diagnóstico, pronóstico, tratamiento y seguimiento de los pacientes oncohematológicos.

La nomenclatura de citogenética fue establecida luego de un consenso mundial en el año 1971 y se halla en constante actualización a medida que se van incorporando nuevas técnicas citogenéticas. Permite interpretar y comunicar las distintas alteraciones cromosómicas causantes de la enfermedad. Los conocimientos de las bases citogenéticas y de su nomenclatura permitirán comprender mejor los mecanismos de leucemogénesis, localizar nuevos genes y mejorar los tratamientos.

Palabras clave: citogenética, oncohematología, nomenclatura.

INTRODUCCIÓN

Debido a la gran cantidad de información difundida en internet, donde se utilizan erróneamente varios términos de la nomenclatura de citogenética, surgió la necesidad de aclarar y revisar algunos conceptos que son de utilidad para la práctica hematológica.

Objetivos:

- Reforzar la importancia de la comprensión de las anomalías cromosómicas, para un mejor aprovechamiento e interpretación de los cariotipos.
- Dar cuenta de los mecanismos que conllevan a la formación de las anomalías genéticas, utilizando algunos ejemplos de las neoplasias mieloides.

BREVE RESEÑA HISTÓRICA DE LA CITOGENÉTICA

Las bases genéticas del cáncer fueron obtenidas en las décadas de 1950 y 1960 cuando se mejoraron las técnicas de cultivo celular y fue posible establecer, en el año 1956 por Tijio y Levan, el número de cromosomas humanos en 46¹.

El análisis cromosómico usualmente se lleva a cabo en células en mitosis (división celular), cuando los cromosomas se hacen visibles como entidades independientes, al microscopio óptico. Luego de identificar cada cromosoma por su forma, tamaño y propiedades de tinción características, se puede confeccionar el cariotipo.

Muchas de las alteraciones citogenéticas son características de una enfermedad en particular o de un subtipo de la enfermedad. Por ello, alteraciones cromosómicas específicas, especialmente en hematología, proveen información para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento. Las alteraciones citogenéticas pueden ser verdaderos biomarcadores para el cáncer humano.

La primera alteración cromosómica específica observada en un tumor humano fue en Philadelphia en 1960, por Nowell y Hungerford: hallaron un cromosoma inusualmente pequeño en células de pacientes con leucemia mieloide crónica. Este pequeño cromosoma fue llamado cromosoma "Philadelphia" (Ph)². El hallazgo aumentó el interés en la citogenética del cáncer y brindó la primera evidencia directa de

una asociación consistente de cambio del ADN en un tumor.

Otro hecho importante en citogenética fue el desarrollo de técnicas de tinción microscópicas, generando así patrones de bandas a lo largo de los cromosomas³. Con este patrón de bandas, cada cromosoma puede ser identificado y los cambios estructurales se pueden caracterizar con mucho mayor detalle. Alteraciones cromosómicas poco frecuentes o raras en tejidos normales, fueron encontradas en diferentes células tumorales. También se vieron otros cambios cromosómicos durante la progresión del tumor. Las modificaciones en los métodos de cultivo y el desarrollo del bandeado de alta resolución permitieron una mejor definición e identificación de rearrreglos que previamente no eran detectables.

Debido a que la obtención de muestras de médula ósea o sangre periférica es relativamente simple, se puede realizar un seguimiento del paciente que permita el estudio de patrones citogenéticos durante los diferentes estadios de la enfermedad, como diagnóstico, remisión y recaída. Ello requiere una preparación y cultivo específicos para la médula ósea. En la actualidad, gran cantidad de técnicas están disponibles para evaluar alteraciones cromosómicas en enfermedades hematológicas malignas⁴.

ESTUDIO DE LOS CROMOSOMAS, NÚMERO, ESTRUCTURA

El cariotipo es el conjunto de cromosomas de una célula en metafase, ordenados de acuerdo a su morfología y tamaño, que caracterizan una especie. (Figura 1).

Las células somáticas del humano poseen en el núcleo 46 cromosomas (23 pares): una dotación de

22 autosomas procedentes de cada progenitor y un par de cromosomas sexuales, un cromosoma X de la madre y un X o un Y del padre. Los gametos –óvulos y espermatozoides– poseen una dotación haploide de 23 cromosomas⁵.

El cromosoma está formado por dos cromátidas unidas por un centrómero (Figura 2). Este se divide en dos brazos, el brazo corto denominado con la letra p y el brazo largo denominado con la letra q⁶.

Clasificación de los cromosomas

Los cromosomas se clasifican de acuerdo a la posición del centrómero en:

- Metacéntricos: El centrómero está ubicado más o menos en el centro, es decir los brazos p y q son aproximadamente de la misma longitud.
- Submetacéntricos: El centrómero se encuentra desplazado del centro (los brazos difieren en longitud).
- Acrocéntricos: El centrómero está ubicado cercano a un extremo (un brazo considerablemente grande comparado con el otro).
- Telocéntricos: Con el centrómero en un extremo, este cromosoma sólo tiene el brazo largo.

Métodos para identificar los cromosomas

Se puede identificar cada cromosoma utilizando diferentes técnicas de tinción⁸.

- *Bandas G*: Técnica descrita como GTG (ISCN 1985), previamente sugerida por McKay 1973 y Schuh et al 1975). Es la técnica de rutina utilizada en los laboratorios de citogenética. Los cromosomas se tratan con tripsina para desnaturalizar

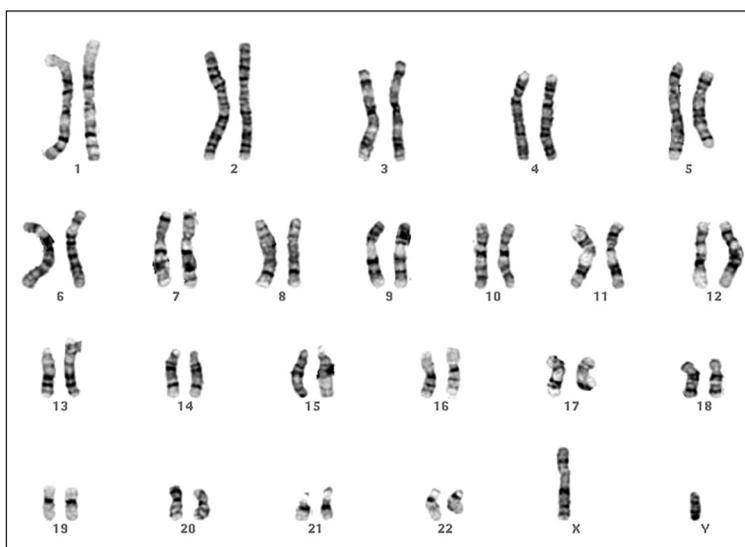


Fig. 1.- Cariotipo masculino normal 46,XY.

las proteínas cromosómicas y luego se tiñen con Giemsa. Cada par de cromosomas se tiñe con un patrón característico de bandas claras y oscuras.

Técnica de bandeado GTG

Bandas G pálidas G-	Bandas G oscuras G+
DNA rico en GC	DNA rico en AT
Replicación temprana	Replicación tardía
Muchos genes	Pocos genes

- **Bandas Q:** Mediante la técnica de Caspersson et al (1972). Los cromosomas se tiñen con quinacrina y se examinan por microscopía de fluorescencia. Los cromosomas se tiñen en patrones específicos de bandas brillantes y opacas. Las bandas brillantes corresponden casi exactamente a las bandas G oscuras.
- **Bandas R:** Conocido como bandeado reverso, los preparados son tratados a altas temperaturas, seguido de coloración con naranja de acridina o Giemsa, generando un patrón de bandas reverso al de los bandeos Q y G. Ampliamente utilizada en Francia.
- **Bandas C:** Descrito por Sumner (1972). A diferencia de las técnicas anteriores, esta técnica colorea zonas específicas del cromosoma ricas en heterocromatina, se tiñe la región centromérica de todos los cromosomas y regiones pericentroméricas de los cromosomas 1, 9, 16 e Y, los cuales son morfológicamente variables, se denominan regiones polimórficas.
- **Bandeado de alta resolución:** La técnica consiste en hacer bandas G o R en preparaciones cromosómicas anteriores a la metafase, cuando los cromosomas no están tan condensados. El bandeado en prometáfase sólo se utiliza cuando se sospecha una alteración estructural (Ejemplo: microdelecciones: *Síndrome de Prader Willi* y *Síndrome de Angelman*).

DIAGRAMA DE UN CROMOSOMA

Un ideograma es una representación gráfica de un cromosoma utilizando tinciones, se muestra la relación existente entre el brazo corto y el largo, posición del centrómero; y si el cromosoma es acrocéntrico también se ilustran los tallos y los satélites. Utilizando este criterio los cromosomas se clasifican en metacéntricos, submetacéntricos y acrocéntricos.

Para identificar un área en particular de un cromosoma se utilizan cuatro criterios, por convención establecida en la Conferencia de París (1971) y normatizada en el primer Sistema Internacional de No-

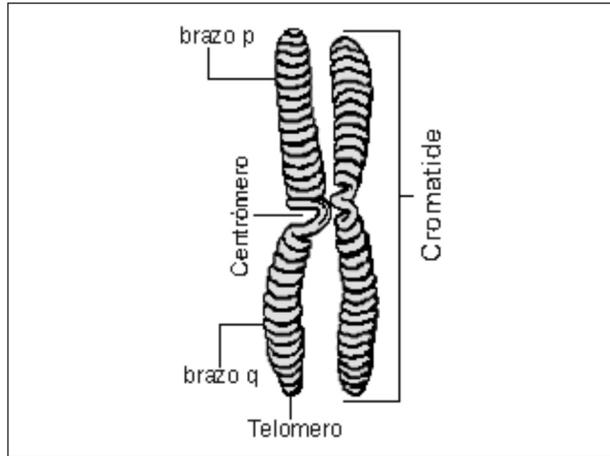


Fig. 2.- Esquema general de un Cromosoma.

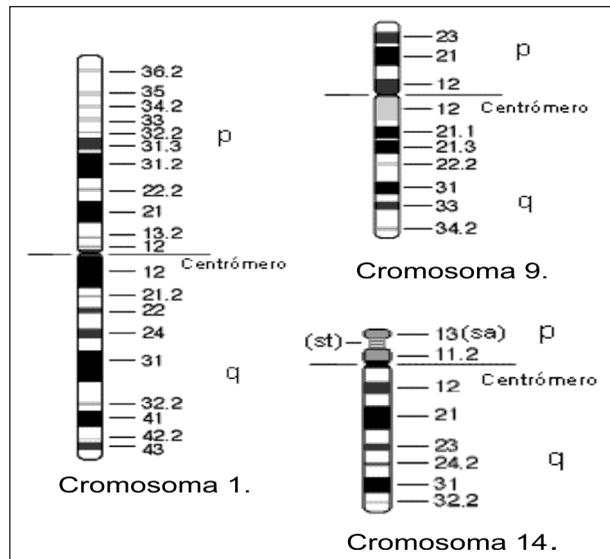


Fig. 3.- Ideogramas de cromosomas 1, 9 y 14.

menclatura para Citogenética humana (ISCN) en 1978: número de cromosoma, el símbolo del brazo, número de la región, y el número de la banda de esa región. Las regiones se numeran desde el centrómero hacia los telómeros. Cuando la banda se encuentra subdividida se coloca un punto decimal luego del número de banda original, seguido del número designado a la subbanda. Dicho Sistema sirve para poder estandarizar las características propias de cada cromosoma.

El ISCN se actualiza y se amplía debido a las nuevas técnicas de citogenética y citogenética molecular, siendo la última publicación en 2009.

ALTERACIONES CITOGENÉTICAS

Se clasifican en alteraciones cromosómicas numéricas y estructurales.

Las anomalías numéricas se subdividen en aneuploidías (pérdida o ganancia de un solo cromosoma) y poliploidías (pérdida o ganancia del un set haploide).

Las anomalías estructurales son rearrreglos en uno o mas cromosomas en particular sin alterar el número modal. Son translocación, deleción, inserción, duplicación, inversión, isocromosoma, entre las más frecuentes. (Figura 5).

ALGUNOS SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS (ISCN 2009) (Ver Tabla 1)

CITOGENÉTICA Y CÁNCER

Muchas de las alteraciones citogenéticas son características de una enfermedad en particular o de un subtipo de la enfermedad. Por ello, alteraciones cromosómicas específicas, especialmente en hematología, proveen información para diagnóstico, pronóstico y/o para el tratamiento, ya que son verdaderos biomarcadores para cáncer humano.

Gracias a los avances en biología molecular fue factible identificar genes relacionados con las distintas neoplasias hematológicas. Existen varias técnicas disponibles para la localización de los mismos en los cromosomas. El descubrimiento de los genes hoy permite realizar tratamientos más específicos y focalizados en cada paciente.

NOMENCLATURA E INTERPRETACIÓN DEL CARIOTIPO

Se utiliza el Sistema Internacional de Nomenclatura para Citogenética Humana (ISCN 2009). Este se

originó para uniformar el sistema de identificación de cromosomas humanos: a partir de allí múltiples avances y desarrollos tecnológicos permitieron sus continuas actualizaciones.

Los cariotipos normales de hombre y mujer son designados como 46,XY y 46,XX, respectivamente.

El *mosaicismo* se define cuando un individuo tiene dos o más poblaciones de células que difieren en su composición genética. Debido a un error en la división celular muy temprano en el desarrollo fetal, o durante procesos de leucemogénesis, los diferentes clones que constituyen el cariotipo en mosaico se separan por barra inclinada (/).

El mosaicismo en oncohematología es el resultado de la evolución clonal en el tejido afectado.

La cantidad de células observadas de un clon en particular se escribe entre corchetes []. Por ejemplo: 47,XX,+8[12]/46,XX[8], esto indica un total de 20 metafases analizadas de un paciente femenino, 12 células muestran el clon anormal con trisomía del cromosoma 8, y el segundo clon observado en 8 células posee un cariotipo normal.

Se denomina *quimera* cuando en el individuo coexisten dos líneas celulares genéticamente distintas y procedentes de cigotos diferentes. Pueden observarse ambos cariotipos cuando se realiza un trasplante de médula ósea y existe rechazo al mismo. De allí radica la importancia de informar al laboratorio, ya que se debe contar mayor cantidad de células para evaluar dicha situación y si sólo se encuentra la médula del donante. Las diferentes líneas celulares se separan por doble barra inclinada (//). Ej. 46,XX[32]//46,XY[18] es un paciente masculino con un donante femenino, en recaída.

TABLA 1

Tipo de alteración	Nombre	Abreviatura	Descripción
Numéricas	Trisomía	+	Ganancia de un cromosoma
	Monosomía	-	Pérdida de un cromosoma
	Hiperdiploidía		Número de cromosomas > 46
	Hipodiploidía		Número de cromosomas < 46
Estructurales	Deleción	del	Pérdida de un segmento cromosómico
	Inversión	inv	Giro de 180 °C del material dentro del mismo cromosoma
	Isocromosoma	i	Duplicación de todo el brazo de un cromosoma con pérdida del otro brazo
	Translocación	t	Intercambio recíproco de material cromosómico entre 2 o más cromosomas
	Derivado	der	Cromosoma resultante luego de una alteración estructural

Cabe recalcar que los genes se ubican en los cromosomas pero sólo se pueden individualizar por técnicas de biología molecular. Las alteraciones génicas no podrán ser evaluadas en estudios citogenéticos ya que los genes no se visualizan al microscopio óptico.

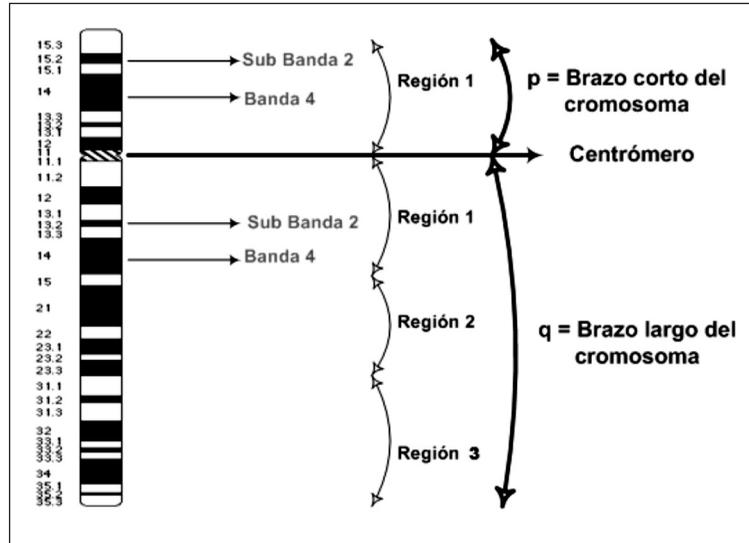


Fig. 4.- Cromosoma 5, brazo, región, banda, subbanda².

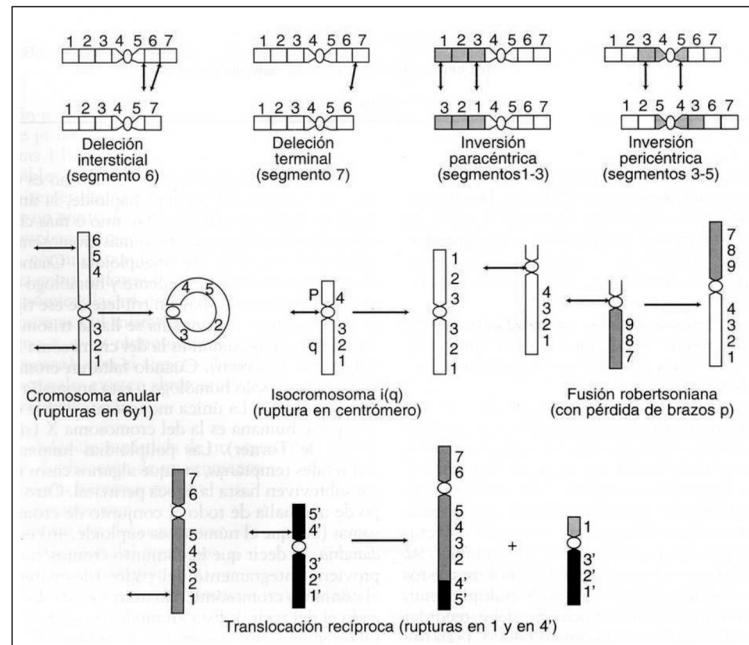


Fig. 5.- Clasificación de alteraciones cromosómicas.

Para definir un clon al menos debemos encontrar la anomalía numérica 2 veces si es por ganancia de cromosoma y 3 veces si es por pérdida.

Si un clon proliferó por alguna alteración estructural se lo describirá en el cariotipo si aparece al menos 2 veces, ejemplo del(5)(q31). En el caso que aparezca sólo 1 vez, se podrá poner al pie del informe como una nota sobre el hallazgo casual, sólo a fines informativos. No se informará dentro del cariotipo.

PRINCIPALES ALTERACIONES CITOGENÉTICAS EN CÁNCER HUMANO

1. Rearreglos cromosómicos balanceados (translocaciones e inversiones).
2. Ganancia o pérdida de cromosomas enteros (aneuploidía) o parte del cromosoma (aneuploidía parcial).
3. Pérdida de Heterocigosidad (LOH. Lost of heterocigosity)⁹.

1. Estas alteraciones cromosómicas en cáncer causan comúnmente un aumento en la proliferación celular por sobreexpresión o activación de un oncogen, (Ej: c-myc) o por la delección de un gen supresor de tumores (Ej Rb y p53).

Los rearrreglos balanceados en cáncer incluyen translocaciones e inversiones, estos rearrreglos casi siempre resultan en una proteína celular quimérica que altera el normal funcionamiento de genes involucrados en crecimiento y diferenciación, resultando en procesos anormales. Más de 600 rearrreglos citogenéticos balanceados fueron descritos en neoplasias¹⁰.

Translocaciones e inversiones determinan la fusión de dos genes, resultando una expresión aberrante debido a su cambio de posición en el cromosoma. Actualmente más de 200 genes de fusión fueron comunicados en la literatura el ejemplo clásico es la t(9;22), llamada cromosoma Philadelphia, el cariotipo resultante es 46,XY,t(9;22)(q34;q11.2), describe un cariotipo masculino anormal con una translocación balanceada entre los cromosomas 9 y 22 en la región 3 banda 4 del brazo largo del cromosoma 9 y brazo largo del cromosoma 22 en la región 1 banda 1 y sub banda 2. En contraste, un cariotipo 47,XY,t(9;22)(q34;q11.2),+der(22)t(9;22) define no sólo una translocación balanceada 9;22 sino que muestra un cromosoma adicional que es derivado de esa translocación (un cromosoma Phi extra). Dicha translocación resulta en la expresión aberrante del oncogen ABL que normalmente permite la proliferación celular, por estar bajo el control del gen BCR que se expresa constitutivamente. Aproximadamente la mitad de las neoplasias hematológicas adquieren translocaciones somáticas. Mientras que las aberraciones balanceadas se relacionan con la etiología de la malignidad, las translocaciones desbalanceadas son frecuentemente reconocidas como indicadores de progresión tumoral secundaria.

Es importante recordar que no todas las translocaciones poseen efecto fenotípico produciendo cáncer, todo depende del punto de ruptura y el gen que se halle involucrado en la translocación, ya que puede pasar silente, un ejemplo son los abortadores recurrentes, individuos que no poseen su fenotipo alterado pero la translocación afecta su reproducción, generando en algunos casos cigotos con translocaciones desbalanceadas incompatibles con la vida o nacimientos con malformaciones, y en otros, cigotos se observa la misma translocación balanceada de su progenitor.

2. Las aneuploidías cromosómicas son extremadamente comunes en cáncer, pueden ser primarias o

secundarias, la ganancia de un cromosoma entero se designa con un +, si es un fragmento adicional se designa "add", resultan en la sobreexpresión de un oncogen. El 15% de las alteraciones cromosómicas en neoplasias hematológicas son pérdidas o ganancias, que pueden ser múltiples o simples¹¹. La trisomía 8, monosomía 7 y trisomía 21 fueron encontradas en diferentes leucemias, ya sea al inicio o como evento secundario.

- 2.a En el caso de la trisomía 21, es importante conocer el cariotipo constitutivo del paciente, ya que la trisomía 21 puede deberse a un paciente con Síndrome de Down o puede ser una aneuploidía nueva debido a una alteración oncohematológica, en un paciente que presentaba un cariotipo constitutivo normal.

- 2.b En el caso de una delección intersticial el ejemplo clásico es el 5q-, que corresponde a una delección entre que generalmente se ubica entre las regiones q31 y q35: del(5)(q31q35). Recientemente se describió el gen *RPS14*, responsable del subtipo de SMD llamado Síndrome 5q-, este gen se mapeó en 5q33.1, asignando así un locus preciso para el gen responsable del subtipo particular de SMD, ya que en la región 5q31 se ubican otros genes que son responsables de los otros subtipos de SMD y de LMA.; asociados a cariotipos complejos y de mal pronóstico¹².

3. La pérdida de heterocigosidad se define como la pérdida de la contribución de uno de los progenitores a la célula, causada por delección, conversión génica, recombinación mitótica, o pérdida de un cromosoma. (Figura 6).

Es frecuente en cáncer, cuando la segunda copia del gen (gen supresor de tumores) es inactivada por otros mecanismos como una mutación puntual o hipermetilación. Cuando se pierde un cromosoma entero o un fragmento grande, el cromosoma o fragmento restante generalmente se duplica, por lo tanto el cariotipo puede verse como normal aunque los genes no estén presentes (ver Conceptos que pueden llevar a confusión)

La disomía uniparental (UPD) es una condición donde ambos cromosomas homólogos son derivados del mismo progenitor, sucede cuando uno de los cromosomas se pierde y su homólogo se duplica. Esto mismo puede ocurrir a nivel molecular. (Figura 7)¹³.

La doble dosis materna o paterna en algunos genes produce enfermedades diferentes (Ej Síndromes de Prader Willi y Angelman), esto se describe como Imprinting. Muchos de los genes imprintados están relacionados con la leucemogénesis.

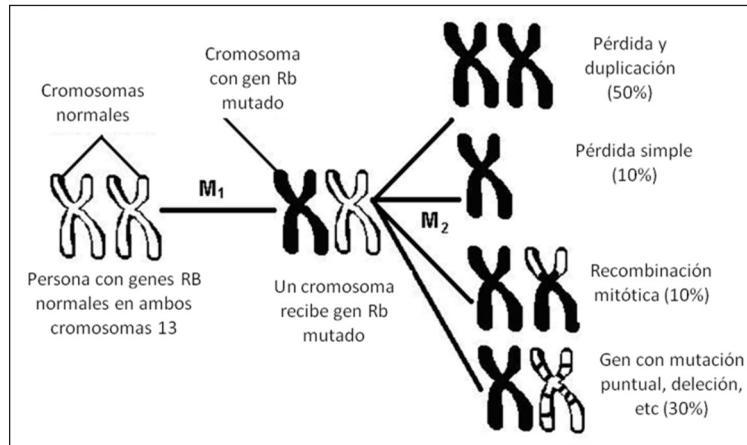


Fig. 6.- Mecanismo de LOH.

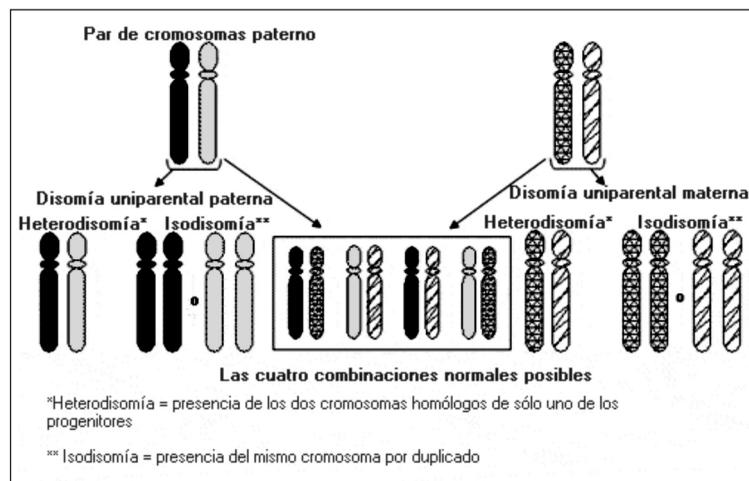


Fig. 7. Disomía uniparental.

En determinadas circunstancias la LOH y la UPD pueden ser identificadas citogenéticamente, debido a la descripción de cromosomas polimórficos, aunque esto no siempre es posible (ver Polimorfismos). Actualmente se resuelve por técnicas moleculares.

ABREVIATURAS UTILIZADAS EN CITOGÉNÉTICA DEL CÁNCER

Abreviatura	Descripción
add	Adición de material genético de origen desconocido
c	Cariotipo constitutivo
cp	Cariotipo compuesto
dim	Cromosoma doble diminuto
hsr	Región de tinción homogénea
mar	Cromosoma marcador

Dim, hsr y mar son distintas formas de amplificaciones del genoma, que suelen incluir oncogenes y resultan en una sobreexpresión de uno o más genes.

Cariotipo constitutivo (c): Es el cariotipo con el que nace un individuo. Este puede modificarse durante la vida por envejecimiento celular, patología oncohematológica, trasplante de médula ósea, terapia génica o por exposición a mutágenos a altísimas dosis, entre otras

Ej. 47,XX,+21, corresponde a un individuo masculino que nació con Síndrome de Down. El Síndrome de Down tiene alta incidencia de presentar leucemia por lo tanto podemos encontrar pacientes con el siguiente cariotipo 48,XX,+8,+21c, por esta razón es importante informar al laboratorio cuando el paciente posee alguna alteración constitutiva.

47,XXYc,t(9;22)(q34;q11.2) en este caso XXY es constitutivo y la t(9;22) es adquirida.

En cáncer es importante recalcar que el cariotipo se modifica en el tejido tumoral, el resto de las células del individuo se mantiene igual.

Cariotipo compuesto (cp): Es la existencia de la heterogeneidad de cariotipos hallados en tumores sólidos. Los linfomas suelen tener cariotipos compuestos. Es la representación de la evolución clonal de los distintos subclones. Cada anomalía debe ser reconocida al menos en dos células¹⁴.

Ej. 45~48,XX,del(3)(p12)[2],-5[4],+8[2],+11[3],+16[3],+17[4]{cp11}

Cariotipo Complejo: Es la existencia de 3 o más anomalías cromosómicas en el mismo cariotipo, son de mal pronóstico y se estila subestimar dicho cariotipo, justamente por su complejidad. Pero la evaluación de la evolución clonal permitiría encontrar las distintas rutas y los diferentes genes involucrados en la malignización.

Ej. 46,XX,+7,-15,del(17)(p11)[8]

El hallazgo de un cariotipo poco habitual o no esperado siempre es un desafío, para investigar posibles nuevos genes responsables de la patología y permitirá re-evaluar al paciente o modificar el diagnóstico presuntivo, así como también el pronóstico.

Pero no todas las alteraciones citogenéticas son de mal pronóstico. Algunas se van a poder revertir y otras todavía no. Si bien cada vez los blancos terapéuticos son más dirigidos, existen tantas rutas alternativas para producir la transcripción de los genes, que muchas veces la célula patológica, se hace resistente a esa droga, lo que lleva a otras alteraciones cromosómicas (Ej. Trisomía 8, en la LMC, con cromosoma Philadelphia negativo, por resistencia al IMATINIB).

IPSS (INTERNATIONAL PROGNOSIS SCORE SYSTEM)

Como ejemplo de la importancia de la utilidad de los hallazgos citogenéticos en oncohematología sabemos que la clasificación IPSS (1998)¹⁵ de puntuación de pronósticos evalúa el valor pronóstico en función del cariotipo hallado, el % de blastos y las citopenias, para poder individualizar grupos pronósticos de Síndromes Mielodisplásicos (SMD), éstos eran:

- Pronóstico bueno: cariotipo normal, del (5q), del (20q), -Y.
- Pronóstico intermedio: +8, inv(3), +9, +11, del(11q), +21, del(13), i(17q)
- Pronóstico malo: -7, del(7), cariotipos complejos (+ de 3 anomalías).

Cabe aclarar que esta clasificación esta en constante evolución debido a la investigación.

CONCEPTOS QUE PUEDEN LLEVAR A CONFUSIÓN

1. Hemicigosidad

Situación en la que un gen está presente en una sola copia, por tratarse de un gen situado en un cromosoma sexual, X e Y, o por pérdida de uno de los dos alelos normalmente presentes en loci autosómicos. (cromosomas del 1 al 22).

Todos los hombres son hemicigotas para los genes de los cromosomas sexuales (XY). Dado que el cromosoma es único, el sujeto no puede ser denominado homocigoto ni heterocigoto (ambas condiciones precisan un par de cromosomas). Poseen una sola copia de los genes del cromosoma X y de los genes del cromosoma Y, por ello no pueden compensar las mutaciones que se producen en éstos cromosomas.

En las enfermedades recesivas ligadas al X, las mujeres como poseen 2 cromosomas X, por compensación de dosis, pueden portar una mutación en un X, y no padecer la enfermedad (Ej Clásicos son Daltonismo y Hemofilia). Por lo tanto son enfermedades que las portan las mujeres y las padecen los hombres.

2. Pérdida y delección

Cabe destacar que la pérdida de un cromosoma entero (-Y), no es lo mismo que una delección del cromosoma Y

a) **Pérdida del cromosoma Y (-Y):** En la pérdida de cromosomas es importante recalcar que éstos se pierden con la edad, debido al envejecimiento de los mecanismos que permiten que se separen correctamente los cromosomas durante las mitosis, es decir como consecuencia de un error de no disyunción mitótica de la célula. Por lo tanto 1 célula (madre) de 46 cromosomas, generará 2 células hijas, una con 45 cromosomas y otra con 47 cromosomas. Por ese motivo, la pérdida de cromosomas sexuales en edad adulta *no* es un factor de riesgo.

Sin embargo, éste mismo mecanismo de no disyunción se da en las mujeres con edad materna avanzada (a partir de los 35 años), hay mayor riesgo de no disyunción pero en meiosis, es decir, en los óvulos y por ende mayor riesgo de formación de un cigoto que presente trisomía 21 (Síndrome de Down).

b) **Delección del cromosoma Y:** del(Y)(q11.1) ó del (Y)(p11): La del(Y)(q11.1) es la pérdida de un fragmento del brazo largo del cromosoma Y, desde q11.1 hasta el final del cromosoma, es una delección terminal. Puede llevar a una infertilidad debido a que en esa zona se encuentran los genes de la familia AZF.

- c) *Deleción del brazo corto del cromosoma Y*, es decir, del (Y)(p11), produce la pérdida del gen SRY, ejerce una función activadora de la diferenciación testicular, por lo tanto aquellos individuos que tengan la deleción en esa región del cromosoma Y no tendrán un fenotipo masculino, sino femenino, esto mismo se observará, si en lugar de una pérdida del SRY se produce una translocación en ese punto al cromosoma X, producirá individuos mujeres 46,XY.

Entonces no es lo mismo perder el cromosoma Y que tenerlo delecionado, o tenerlo más largo o más corto en la zona heterocromática. El efecto fenotípico es muy diferente.

Por lo expuesto es importante no intercambiar el término deleción con pérdida (error muy frecuente que se halla en páginas de internet, cuyo autor no es genetista).

3. Polimorfismos en citogenética

Son variantes morfológicas en algunos segmentos cromosómicos que son considerados normales en la población general, sin que esto repercuta en una patología específica. Estas variantes morfológicas se expresan en el tamaño de la heterocromatina de los cromosomas 1, 9, 16 e Y¹⁶. Estos son heredados, por ello fue una de las primeras maneras, aunque muy rudimentaria, para establecer filiación, así como también describir la disomía uniparental (UPD). Ejemplo: un niño posee dos cromosomas 16 qh+, pero sin embargo sólo uno de los progenitores posee este polimorfismo, esto significa que heredó los dos cromosomas 16 de un sólo progenitor. (Figura 8).

No todos los cromosomas poseen polimorfismo, por lo tanto no es una técnica utilizada actualmente para estudiar UPD; se realiza por biología molecular.

En el cromosoma Y los polimorfismos son: Yqh+; Yqh⁻¹⁷.

Yqh+ significa mayor cantidad de heterocromatina en el brazo largo del cromosoma Y, así como Yqh- significa menor cantidad de heterocromatina en el brazo largo del cromosoma Y.

Los polimorfismos se presentan en un porcentaje pequeño de la población.

La región de tamaño variable esta compuesta de heterocromatina (ADN no codificante), por lo tanto no produce ningún efecto fenotípico en la persona que posee el polimorfismo.

4. Isocromosomas

Es un tipo de alteración cromosómica donde uno de los brazos de un cromosoma en particular se duplica debido a que el centrómero se divide transversalmente y no longitudinalmente, como es normal, durante la división celular. Los dos brazos de un isocromosoma son por lo tanto de igual tamaño y contienen los mismos genes¹⁸. Existe isocromosoma de brazo largo e isocromosoma de brazo corto. En la próxima duplicación se observan cromosomas en espejo (2 brazos cortos ó 2 brazos largos). (Figura 9).

Por ello si hablamos de isocromosoma, es importante recalcar si es de brazo largo. Ejemplo: i(17)(q10), esto nos define que un cromosoma 17 está compuesto por 2 brazos largos, y por lo tanto tenemos monosomía del brazo corto.

El dato mas relevante de esto es que el gen p53 se halla en el brazo corto del cromosoma 17 y por lo tanto, al ser una mutación que se comporta como dominante produce que se mute o delecione el otro alelo del gen, desregulando todo el ciclo celular y evitando así la apoptosis. Por esta razón, las células mutadas no entran en apoptosis y continúan el ciclo

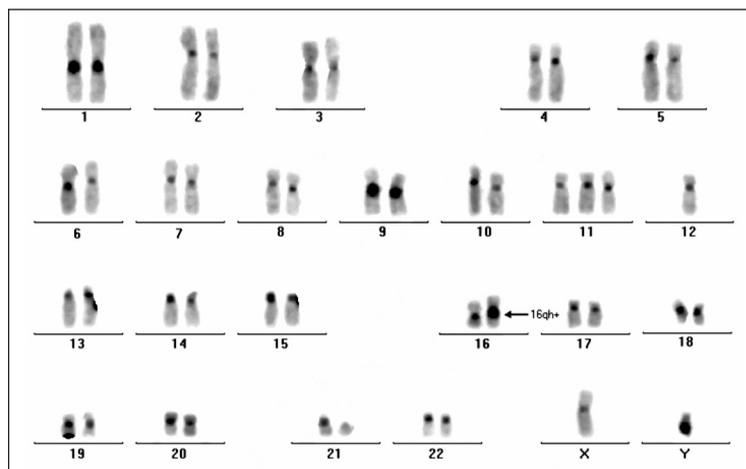


Fig. 8.- Cariotipo masculino presentando 16qh+ e Yqh+.

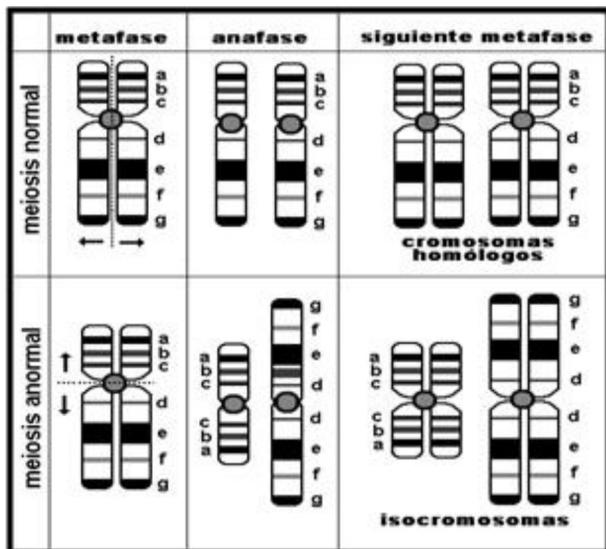


Fig. 9. Formación de Isocromosomas.

celular, permitiendo la aparición de clones alterados que finalmente conducen a leucemogénesis.

5. Genes supresores de tumores y pérdida de heterocigosidad (LOH)

Los genes supresores de tumores son más difíciles de identificar porque ellos inhiben el cáncer y son recesivos, ambos alelos deben mutar para que desaparezca la inhibición de la división celular. Un organismo puede heredar una copia defectuosa de un gen supresor de tumores y no tener cáncer porque el alelo normal restante produce el producto supresor del tumor. Estos heterocigotos a menudo están predispuestos al cáncer porque la inactivación o la pérdida de un alelo remanente es todo lo que se requiere para eliminar por completo el producto supresor de tumores y se denomina pérdida de heterocigosidad (LOH). La LOH describe un mecanismo estructural del gen. Uno de los primeros genes supresores de tumores que se identificó fue el gen del retinoblastoma en 1985. Su mecanismo de acción había sido propuesto por Knudson como la hipótesis de los dos golpes (two hits hypothesis) en el año 1971¹⁹ y confirmada recién en 1987 por técnicas de biología molecular. Actualmente se la denomina hipótesis de Knudson.

Haploinsuficiencia

Una situación en la cual la proteína producida por una sola copia de un gen normal, no es suficiente para garantizar una función normal.

Haploinsuficiencia es un término funcional, que se emplea cuando el producto de un gen es la mitad del nivel normal²⁰. Puede presentarse debido a un

número de problemas, el más común es que una de las dos copias de un gen falte como producto de una deleción. En otros casos lo que se produce es una mutación en el gen, que altera su estabilidad a nivel de ARN mensajero afectando la producción del mensaje de ese gen que codifica para la proteína en las células. Ejemplos clásicos son los genes supresores de tumores.

En genes supresores tumorales la haploinsuficiencia lleva a la pérdida de heterocigosidad.

6. Epigenética

Estudia las interacciones causales entre los genes y sus productos que dan lugar al fenotipo. Es el estudio de cambios heredables en la función génica que se producen sin un cambio en la secuencia del ADN.

Los mecanismos de modificación epigenéticos son metilación del ADN, acetilación de histonas, fosforilación de proteínas, todos muy interrelacionados. Existen otros sistemas de regulación a nivel del procesamiento, estabilidad y traducción del ARNm, entre otros. Por lo tanto, la expresión génica está intensamente regulada, lo cual permite desarrollar los múltiples fenotipos.

Un ejemplo de los genes relacionados con éstos mecanismos y la génesis del SMD: en 4q24 se localiza el gen TET2, este tendría un rol en la producción de hidroximetil citocina, contribuyendo a la regulación epigenética¹².

CONCLUSIONES

El cariotipo tiene una nomenclatura establecida, no debe dejarse librado a una múltiple interpretación. Este puede modificarse en determinados tejidos, especialmente en enfermedades oncohematológicas, conservándose el cariotipo constitutivo en el resto de los tejidos.

La comprensión de los mecanismos de la formación de la leucemogénesis, la localización de genes responsables del cáncer, el advenimiento de las nuevas tecnologías, nos permiten ver más allá de los cariotipos y predecir un aluvión de conocimientos, que vendrán con la esperanza de seguir encontrando respuestas a los pacientes oncológicos.

*"El conocimiento es un camino, nunca llegamos a destino"*²¹. Y si el camino es interdisciplinario, los obstáculos en el camino se van a ir sorteando mejor.

Por ello consultar e intercambiar opiniones entre las distintas ramas del conocimiento en salud es fundamental para *hablar el mismo idioma*.

Agradecimientos: Queremos agradecer el apoyo del Grupo de SMD y al de citogenetistas de la Sociedad Argen-

tina de Hematología (SAH) así como al Dr. Lazarowski por su visión de la educación permanente de todo el equipo de salud, al cual nos adherimos.

ABSTRACT

The oncohematology breakthrough is due, in large part, on the use of the cytogenetics techniques. These studies help to establish the diagnosis, prognosis, treatment and monitoring of oncohematologic patients.

The cytogenetic nomenclature was established after a global consensus in the year 1971 and is in constant updating, following the development of new cytogenetic techniques. These techniques allows the characterization and communication of the chromosomal abnormalities which leads to disease. The knowledge of the cytogenetic bases and its nomenclature will enable to understand the mechanisms of leukemogenesis, to identify new genes and to improve the treatments.

Key words: cytogenetics, oncohematology, nomenclature.

BIBLIOGRAFÍA

1. Tijio TH, Levan A. The chromosome number of man. *Hereditas* 1956; 42: 1-6.
2. Nowell P, Hungerford D. A minute chromosome in human granulocytic leukemia. *Science* 1960; 132: 1497.
3. Caspersson T, Zech L, Johansson C. Differential binding of alkylating fluorochromes in human chromosomes. *Exp Cell Res* 1970; 60: 315-19.
4. Naeim F, Nagesh Rao P, Gridy W W. Haemopathology, morphology, immunophenotype, cytogenetics an molecular approaches. Academic Press, 2008.
5. Salamanca F. Citogenética Humana, ed. Panamericana, 1990, cap. 3, p 25-33.
6. Salamanca F. Citogenética Humana, ed. Panamericana, 1990, cap. 7, p 63-73.
7. Verma R S. and Babu A. Human Chromosomes, Principles and techniques, second edition, ed. Mc Graw Hill, 1995.
8. ISCN. 2005. An international System for Human Cytogenetic Nomenclature, Shaffer LG, Tommerup N (eds); S. Karger, Basel, ed. Karger, 2005, cap. 2, p 7-8.
9. Naeim F, Nagesh Rao P, Gridy W W. Haemopathology, morphology, immunophenotype, cytogenetics an molecular approaches. Academic Press 2008, cap. 3, 57-60.
10. Mitelman F. Cancer cytogenetics update. Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol, 2005.
11. Naeim F, Nagesh Rao P, Gridy W W Haemopathology, morphology, immunophenotype, cytogenetics an molecular approaches. Academic Press, 2008., capitulo 3, 61-63.
12. Acquaviva C et al. Myelodysplastic syndromes: lost between two states?. *Leukemia*, 2010. 24, 1-5.
13. Mueller RF, Young ID. Emery's Elements of Medical Genetics. Ed Churchill Livingstone 11th edition, 2002, p. 108-109.
14. ISCN 2009. An international System for Human Cytogenetic Nomenclature, Editor(s): Shaffer, L.G., Slovak, M.L.; Campbell, L.J. 2009, cap. 11, p 88-96.
15. Greenberg P et al. International Prognostic Scoring System IPSS, *Blood* 1997; 89: 2079-2088 y *Blood*, 1998; 91: 1100.
16. Salamanca F. Citogenética Humana, ed Panamericana, 1990, cap. 5, p 44.
17. ISCN 2009 An International System for Human Cytogenetic Nomenclature, 2009, Editor(s): Shaffer, L.G., Slovak, M.L.; Campbell, L.J., cap. 7, p 53.
18. Mueller RF, Young ID. Emery's Elements of Medical Genetics. Ed Churchill Livingstone 11th edition, 2002, p 353.
19. Knudson AG. Mutation and cancer: Statistical study of retinoblastoma. *PNAS*, 1971 vol. 68 n. 4: 820-823.
20. Greenber PL, Young NS, Gattermann N. Myelodysplastic syndromes. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2002, p 136-61.
21. Benasayag S et al. Conocimientos esenciales de biología molecular para Médicos". "Nuevos blancos terapéuticos" SAH, conferencia, 1° de Septiembre de 2004. "Auditorio Osecac", Buenos Aires.

GLOSARIO Y DEFINICIONES

Gen: Es la mínima secuencia de ADN que codifica una información heredable. Los genes se ubican en los cromosomas, en un lugar determinado llamado locus (loci es el plural) y llevan la información para la elaboración de todas las proteínas requeridas por el organismo.

Cromosoma: Son estructuras en forma de bastón constituidos por ADN (genes) incluido en una trama proteica. El conjunto de cromosomas se denomina cariotipo y caracteriza una especie (ver citogenética).

Genoma: Posee la información necesaria para producir una célula, constituido por todo el ADN contenido en un organismo o célula, que incluye tanto los cromosomas dentro del núcleo como el ADN mitocondrial. Identifica una especie.

Cariotipo: Dotación cromosómica completa de un individuo o una especie, que puede observarse durante la metafase al microscopio óptico. El término también se refiere a la presentación gráfica de los cromosomas, ordenados en pares de homólogos y que se puede describir conforme a una nomenclatura convencional.

Fenotipo: Es la expresión aparente del genotipo (fenotipo=genotipo +ambiente).

Ambiente: En genética todo lo que no está codificado en los genes se define como ambiente: Ejemplo: virus, bacterias, radiaciones, químicos, tóxicos, drogas, contaminación, mecanismos epigenéticos. También definimos como ambiente a la interacción celular, tisular, las interrelaciones sociales, familiares y entre organismos.

Epigenética: Estudia las interacciones causales entre los genes y sus productos que dan lugar al fenotipo. Es el estudio de cambios heredables en la función génica que se producen sin un cambio en la secuencia del ADN. Los mecanismos epigenéticos son metilación, acetilación, fosforilación, entre otros.