

HALLAZGOS CITOGENETICOS EN VEINTIDOS TRASTORNOS HEMATOLOGICOS PRELEUCEMICOS Y LEUCEMICOS

Dr. CESAR PAZ Y MIÑO

Unidad de Genética Médica. Fundación "Simón Bolívar" — Unidad de Investigación Médica. Quito-Ecuador

RESUMEN

Se presentan los resultados citogenéticos de 22 trastornos hematológicos preleucémicos y leucémicos, haciendo una revisión de las alteraciones cromosómicas más frecuentes y su implicación en la clínica, diagnóstico y evolución de la enfermedad. Se estudió 8 Leucemias Agudas (LA), 6 y 2 Eosinofilias. Las preparaciones cromosómicas se hicieron con técnica directa, los cromosomas se los estudió con tinción normal Giemsa, bandas Q y bandas GTG. Las edades de los pacientes oscilan entre 9 y 63 años. Los cromosomas más implicados en reestructuraciones y aneuploidías fueron el 9, el 22 y el 8 en 22,70/o de casos; el 18 en 18,10/o; el 17 en 9,090/o y el resto de cromosomas: 5, 11, 15, 21 y otros inespecíficos del grupo C y D en 4,50/o cada uno. Estos hallazgos citogenéticos coinciden con los referidos en la literatura. Los hallazgos más frecuentes fueron la translocación 8;14 en la LAL; la translocación 15;17, la t (8;21) y la trisomía 8 en la LANL; el cromosoma filadelfia (Ph) en la LMC; el marcador 5q- (delección del brazo largo del cromosoma 5) y la trisomía 18 en los SMD; en las eosinofilias no se encontró alteraciones cromosómicas. Se hace también una breve revisión de datos de la literatura sobre los oncogenes secuenciales en los sitios de las reestructuraciones cromosómicas implicadas en las leucemias, como son los oncogenes c-fis y erb A1 en la translocación 15q22; 17q21 en las LANL, el c-fms en el 5q- y el c abl-bcr implicado en el cromosoma Ph, sobre los oncogenes se revisa la posible implicación en el desarrollo de los procesos malignos. Finalmente se resalta la importancia de la citogenética y su idónea utilización en la clínica y la investigación. (*Revista de la Facultad de Ciencias Médicas (Quito)*, 11:157, 1986).

INTRODUCCION

En 1960, Nowell (1) reporta la primera anomalía cromosómica relacionada con un proceso maligno, la describió como una anomalía de un cromosoma del grupo G, al que llamó Cromosoma Filadelfia, por el sitio en que fue descrito. Desde aquel momento los estudios citogenéticos encaminados a relacionar alteraciones cromosómicas específicas con alteracio-

nes hematológicas han sido innumerables. Las nuevas técnicas en citogenética, la sencillez relativa de las mismas, el bandeo de los cromosomas y la genética molecular, han sido de gran ayuda para dilucidar las cuestiones relacionadas con los cambios cromosómicos en los procesos hematológicos premalignos y malignos.

La citogenética aplicada a la clínica, hoy centra su estudio en los siguientes aspectos (2): (a) detección de alteraciones cromosómicas co-

mo medio diagnóstico; (b) clasificación citogenética de los procesos hematológicos; (c) caracterización de los diferentes grados de desarrollo de la enfermedad; (d) evaluación de la remisión o agudización de la enfermedad, y (e) pronóstico de la enfermedad.

A parte de la utilidad clínica, a nivel investigativo, el hallazgo de alteraciones citogenéticas específicas o marcadores de malignidad de ciertos trastornos, o la frecuente asociación de una cromosomopatía con un proceso hematológico, han servido para la localización de oncogenes, que están ayudando en la comprensión de la etiopatogenia y comportamiento de los procesos malignos en general.

Este trabajo presenta los resultados citogenéticos de 22 diferentes trastornos hematológicos, leucémicos y preleucémicos, como también hace una breve revisión de las alteraciones más frecuentes en los mismos y sus implicaciones.

PACIENTES Y METODOS

Las médulas óseas de 22 pacientes con diferentes alteraciones hematológicas fueron estudiadas citogenéticamente. 12 muestras estudiadas provinieron de centros asistenciales públicos y privados de Quito y 10 muestras fueron estudiadas en Madrid - Departamento de Genética, Instituto de Investigaciones Médicas-Fundación "Jiménez Díaz".

Para el estudio se consideró: a) el diagnóstico hematológico, b) edad de los pacientes, c) sexo, y d) fórmula citogenética. La serie estudiada comprende: 8 Leucemias Agudas (LA), 3 Linfocíticas (LAL) y 5 no Linfocíticas (LANL); 6 Leucemias Crónicas (LMC); un total de 6 diferentes Síndromes Mielodisplásicos (SMD); y finalmente 2 casos de eosinofilia inespecíficas, clasificadas como OTROS.

La muestra de médula ósea se extrajo por punción directa de cresta ilíaca, la médula se recolectó en un frasco con anticoagulante (heparina). Inmediatamente se preparó la médula con técnica directa (3, 4) para el estudio cromosómico: se colocó la muestra en 5 cc de medio

de cultivo RPMI 1640, añadido suero Newborn a una concentración de 13,5o/o penicilina—estreptomicina 0,075 ml, glutamina 0,075 ml y hepes buffer 0,025 ml. Se agregó 250 microlitros de colchicina (bloqueador de mitosis) y se incubó por 1,30 horas a 37 grados centígrados. Pasado este tiempo se sacrificó el cultivo con la técnica habitual: choque hipotónico con citrato sódico al 1o/o en agua por 20 minutos; fijador de Carnoy (1:3 ácido acético: metanol) por 20 minutos y 3 lavados consecutivos; extensión de los cromosomas y tinción con Giemsa. Se realizó técnica de bandas Q (fluorescencia a la quinacrina) y bandas GTG (tripsina Giemsa). Un mínimo de 20 metafases fueron contabilizadas en cada caso, anotándose las alteraciones numéricas o estructurales existentes.

RESULTADOS

Un total de 10 pacientes mujeres y 12 hombres conforman la muestra, sus edades están comprendidas entre 9 y 63 años.

Los resultados citogenéticos son variados en los diferentes grupos de afecciones, concordando los mismos con reportes de otras series de la literatura (2, 5, 8), los resultados de los hallazgos citogenéticos se los presenta en la tabla No. 1.

Una revisión general de todos los cromosomas implicados en reestructuraciones o aneuploidías, muestran que los cromosomas más afectados en orden de frecuencia son: el 9 y el 22 implicados en el cromosoma Ph en 5 casos (22, 7o/o) cada uno; el 8 en 5 casos (22, 7o/o); el 18 en 4 casos (18, 18o/o); el 17 en 2 casos (9, 09o/o); y el resto de cromosomas 5, 11, 15, 21 y otros inespecíficos de los grupos C y D manifestados en un caso cada uno (4, 5o/o).

Los hallazgos citogenéticos más frecuentes fueron: la translocación 8;14 en la LAL; la translocación 15;17, la translocación 8;21 y la trisomía 8 en la LANL; el cromosoma Ph en todos los casos de LMC; el marcador 5q- (delección del brazo largo del cromosoma 5) y la trisomía 18 en los SMD; en los dos casos de eosinofilia estudiados no se evidenció altera-

Tabla No. 1. — Hallazgos Citogenéticos en los 22 casos estudiados

TIPO DE TRASTORNO	EDAD AÑOS	SEXO	CITOGENETICA	% DE PRESENTACION EN OTRAS SERIES
LEUCEMIAS AGUDAS				
LAL	46	M	46, XY, t (18;14)	90
LAL	52	M	46, XY, +8	?
LAL	13	F	46, XX i (17q)	?
LANL (M3)	29	M	46, XY, t (15;17)	90
LANL (M4)	33	M	46, XY del (11q)	22
LANL (M2)	39	F	46, XX, t (8;21)	13
LANL (M5)	53	M	47, XY, +8	23
LANL	41	F	44, XX, -C, -D	?
LEUCEMIAS CRONICAS				
LMC	25	F	46, XX, Ph+	85
LMC	32	F	46, XX, Ph+	
LMC	15	M	46, XY, Ph+	
LMC	9	M	46, XY, Ph+	
LMC	43	M	46, XY, Ph+	
LMC	63	M	46, XY, Ph+	
SINDROMES MIELODISPLASICOS				
ANEMIA APLASTICA	19	F	46, XX	
PANCITOPENIA	66	F	47, XX, +8	20
ANEMIA REFRACTARIA	67	M	47, XY, -18/47, XY, +8	70
ANEMIA REFRACTARIA	16	M	46, XY, 5q-	22
ANEMIA MEGALOBLASTICA	78	F	47, XX, +18	25
TROMBOCITOPENIA		F	46, XX	
OTROS				
EOSINOFILIA	46	F	46, XX	
EOSINOFILIA	39	M	46, XY	

ciones citogenéticas, en la literatura tampoco se han reportado alteraciones, excepto en leucemias eosinofílicas, estos dos casos más bien son eosinofilia inespecíficas. Estas alteraciones estructurales halladas, en su mayoría han sido descritas con anterioridad en otras series (2-8) y constituyen más o menos marcadores cromosómicos específicos de los diferentes procesos hematológicos. En la tabla No. 1 se recogen los hallazgos citogenéticos en los diferentes tipos de procesos premalignos o malignos de la serie estudiada, haciendo una comparación con datos de otras series.

DISCUSION

El presente estudio es una recopilación representativa de algunos procesos hematológicos y de los hallazgos citogenéticos frecuentemente descritos. Los resultados citogenéticos positivos y coincidentes con los resultados de otras series demuestran la validez de la metodología empleada en las preparaciones cromosómicas y la importancia del empleo de la citogenética como diagnóstico. Aunque es una serie corta y no se puede sacar conclusiones generales, sirve de revisión de las alteraciones cromosómicas más frecuentes en hematología.

En las LAL (3, 9) las alteraciones cromosómicas han sido observadas solamente en el 50o/o de casos estudiados, es frecuente las alteraciones numéricas (aneuploidías por ganancia o pérdida cromosómica) en las que están implicados los cromosomas 21, 14 y 13, deleciones del 16q- (pérdida de parte del brazo largo del cromosoma 16); en linfocitos B se ha visto el marcador 14q+ por ganancia de material cromosómico de parte del cromosoma 8q u 11q. En algunas LA se ha descrito la presencia del cromosoma Ph, postulándose este hecho como que este tipo de leucemias serían leucemias crónicas de evolución violenta (7). En el presente estudio en las LA se ha encontrado la translocación 8;14 típica del 90o/o de LAL, la trisomía 8 y el isocromosoma 17q.

En la LANL (3, 9, 11) igualmente sólo el 50o/o de pacientes presentan alteraciones cito-

genéticas en fase diagnóstica. 85o/o de casos tienen 45, 46 o 47 cromosomas, siendo los más afectados: 8 y 21 en exceso y el 7 y 5 en pérdida. Alteraciones cromosómicas relacionadas con los diferentes estadios según la clasificación de la FAB (2, 10, 11) son: Fase M1 o M2 en menores de 30 años la translocación 6;9. Fase M3 la translocación 15;17 con puntos de rotura 15q22; 17q21, a este nivel se han podido secuenciar dos oncogenes el c-fis en el cromosoma 15 en su banda q25 muy próximo al punto de rotura de la translocación 15;17 y el oncogen erb A1 en el cromosoma 17 en su banda q21, éste tendría papel más activo en el proceso de proliferación ilimitada de las LANL M3. En fase M4 y M5 se ha encontrado la deleción del cromosoma 11 en su brazo largo (11q-) y la translocación 9;11, también en un 4o/o de casos de M4 se ha encontrado la deleción del 16 en su brazo largo (16q-) o la inversión del brazo largo (inv 16q). Otra alteración encontrada en ciertos procesos leucémicos es la deleción del brazo largo del cromosoma 5q- (del 5q13-33), a este nivel se ha secuenciado un oncogen el c-fms el cual podría estar implicado en la etiología de este tipo de leucemias, aunque la deleción 5q- ha sido descrita en algunas LANL es más típico en leucemias secundarias (agentes mutantes, químicos, radiaciones).

Las LMC (3, 7, 9), son la base de los adelantos investigativos en citogenética de la malignidad, desde que Nowell reportó el cromosoma Ph. Se ha visto que 90o/o de casos de LMC son Ph+ y 10o/o son Ph-, un 2 a 3o/o son mosaicos Ph+ /Ph-. En 1973 por el desarrollo de las técnicas de bandas se descubre el origen del cromosoma Ph (12). 95o/o de casos el Ph resulta de una típica translocación entre el cromosoma 9 y el 22 a nivel de las bandas 9q34 y 22q11, el 5o/o restante es producto de otras reestructuraciones.

El Ph se lo puede detectar tan solo en médula ósea, ya que se encuentra en todas las células precursoras mieloides (granulocitos, eritrocitos y megacariocitos), en sangre periférica no aparece el Ph y los pacientes tienen cariotipo normal, excepto que existan blastos en sangre

(9). En fase aguda de la LC el Ph+ aparece en el 80o/o de casos. Otras alteraciones frecuentes son el i (17q), la trisomía 8 y la 19. En fase crónica 10 a 30o/o de casos son Ph+ y es frecuente la pérdida del cromosoma Y, la trisomía 8 y el doble Ph.

Las técnicas de secuenciación del ADN han puesto de manifiesto que la disposición de los genes en el cromosoma Ph son los responsables de la proliferación de las células mieloides. En 1982 se localizó un oncogen, el c-abl en el cromosoma 9 a nivel de la banda q11; el ARN de este gen (protoncogen), de 6 kilobases de longitud (6.000 pares de bases) produce una proteína de 145.000 de PM. El punto de rotura del cromosoma 9, implicado en la traslocación es variable (50 a 100 Kb). En el cromosoma 22, el punto de rotura implicado en la traslocación es muy específico, centrado en una región de 5,8 Kb llamada bcr (breakpoint cluster region). Durante la reestructuración de la translocación, el c-abl del cromosoma 9 se localiza en el medio del gen bcr del 22 en dirección 5'-3' de la cadena de ADN; el nuevo gen (oncogen) resultante de la translocación 9, 22, formado de la unión de cabl-bcr tienen una nueva longitud de 8,6 Kb y produce una proteína de 210.000 PM. Esta nueva proteína de oncogen no se sabe cómo funciona, aunque se sabe sí, que tiene actividad de tirosinquinasa y actúa en varios receptores de membrana como factores de crecimiento epidérmico; podría también el oncogen activo, estar regulado por un antioncogen, que modificaría su acción o la bloquearía, se ha comprobado que siempre que exista un cromosoma Ph o una reestructuración diferente de cromosomas en las que este implicado el cromosoma 22, debe darse la reorganización del oncogen como se ha descrito, quedan todavía muchos aspectos por aclarar en el funcionamiento de éste y de otros oncogenes (13 - 15).

En la presente serie la única alteración encontrada en las LC es el cromosoma Ph en su forma estructural típica t(9q34; 22q11).

En los SMD o estados preleucémicos (16, 17) la primera dificultad que se tiene es la división entre estados preleucémicos y leucemias,

la clasificación más aceptada considera SMD: desórdenes mieloproliferativos: mielesclerosis y mielofibrosis. LMC Ph-, anemias, pancitopenia, trombocitopenias y granulocitopenias. Los hallazgos citogenéticos son variados: delección del brazo largo del cromosoma 20 (20q-) y trisomía 8 o 9 en 25-30o/o de pancitopenias. En anemias refractarias la trisomía 8 y el 5q-; en anemias sideroblásticas el 20q-. En la serie estudiada sólo un caso presentó el marcador 5q-.

La mayoría de alteraciones encontradas en las diferentes series estudiadas y en la presente son de origen estructural antes que numérico, este hecho sustenta mejor la hipótesis de activación de oncogenes en las reestructuraciones cromosómicas (13, 14), así mismo en la fase aguda de la enfermedad es cuando mayor frecuencia de alteraciones estructurales se encuentra, mientras que las alteraciones numéricas están relacionadas con la evolución de una afección ya instaurada. Bajo esta perspectiva, se postula que, una primera alteración en un oncogen se manifestará en toda la línea celular dependiente de esa primera célula pluripotencial, este fenómeno se conoce como evolución clonal y ha sido comprobado con técnicas enzimáticas y marcadores de membrana, concluyendo que la mayoría de alteraciones cromosómicas de los procesos hematológicos malignos efectivamente derivan de una única célula (3, 7).

Se ha visto también que las alteraciones cromosómicas observadas no permanecen estables y cambian según el curso de la enfermedad. La mayoría de observaciones coinciden en que las alteraciones tienden a desaparecer en las fases de remisión y reaparecen en la fase de agudización, esto ha servido para que se utilice los resultados citogenéticos en la valoración pronóstica, evolutiva y aún clasificatoria de los procesos hematológicos. En fase diagnóstica de LA, con línea citogenética normal la supervivencia es de 10 meses, con una línea celular citogenéticamente normal y otra alterada la supervivencia es de 7 meses, y si solamente existen líneas citogenéticamente alteradas la supervivencia es de 4 meses. En la LMC la presencia

del Ph es de mejor pronóstico, 4 años, frente a 10 meses cuando es Ph-, así mismo la presencia del i (17) es de peor pronóstico que la pérdida del cromosoma Y, los mosaicos Ph+/Ph- son de mejor pronóstico (3, 18).

Finalmente es de destacar la importancia que tiene la citogenética en el manejo clínico y a nivel investigativo en los diferentes procesos hematológicos preleucémicos y leucémicos.

BIBLIOGRAFIA

- Nowell, P., Hungerford, D.: A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia. *Science*, 132: 1497, 1967.
- Gordón, W.D., Pierre, N., Richard, J.D., Spurbereck, J.L.: Chromosome Abnormalities in Malignant Hematologic Disorders. *Mayo Clin. Proc.*, 60: 675, 1985.
- Sandberg, A.: *The chromosome in human cancer and leukemia*. New York. Elsevier North-Holland, 1980.
- Sandberg, A., Abe, S.: Cytogenetic techniques in hematology. *Cli. Haematol.*, 9: 19, 1980.
- Avéry, A., Sandberg, A., Rodman, M., Berger, C., Kaiser-McCaw, B., Hecht, F.: El análisis cromosómico en las enfermedades hematológicas. Las leucemias. *Am. J. Med.*, 76: 971, 1984.
- Berger, R.: The Chromosomes in Hematology. *Can. Genet. Cyto. Genet.*, 4: 69, 1981.
- Rowley, J.D.: Chromosome Abnormalities in human leukemia. *Ann. Rev. Genet.*, 14: 17, 1980.
- Knapp, R., Dewald, G., Pierré, R.: Cytogenetic Studies in 174 consecutive patients with Preleukemic or Myelodysplastic Syndromes. *Mayo Clin. Proc.*, 60: 507, 1985.
- Benítez, J.: Citogenética de las leucemias y estados preleucémicos. *Rev. Clin. Española.*, 153: 149, 1980.
- Bennett, J.M., Catovsky, D., Daniel, M.T., Flandrin, G., Galton, D.A., Gralnick, H., Sultan, C.: Proposals for the Classification of the Acute Leukemias. *British J. of Haematology*. 33: 451, 1976.
- Prieto, F., Badia, L., Benítez, J., Carbonell, F.: Leucemias Infantiles. Ponencia, XII Congreso Nacional de Genética Humana Oviedo. *Libro de Resúmenes*. pp. 17-22, 1984.
- Rowley, J.D.: A New consistent chromosomal abnormality of the Philadelphia (Ph) chromosome. *Blood*. 35: 23, 1973.
- Sandberg, A., Gemmill, R., Hecht, B.K., Hecht, F.: The Philadelphia Chromosome: A model of Cancer Molecular Cytogenetics. *Can. Genet. Cytogenet.*, 21: 129, 1986.
- Kaplan, J.C., Aurias, A., Julier, C., Prieur, M., Szajnert, M.: Human Chromosome 22. *J. Med. Genet.*, 24: 65, 1987.
- Cruz-Coke, R.: Translocation chromosome map of oncogen. *J. Med. Genet.*, 24: 111, 1987.
- Zapata, N., Cruz, A., Pizzuto, J., González, A.: Alteraciones cromosómicas en veinte pacientes con trastornos dismielopoyéticos (preleucémicos). *Sangre*. 30: 430, 1985.
- Nowell, P., Besa, E., Stelmach, T., Finan, J.: Chromosome Studies in Preleukemic States. *Cancer*. 58: 2571, 1986.
- Sakurai, M., Sandberg, A.: Chromosomes and Causation of Human Cancer and Leukemia, XI Correlation of Karyotypes with Clinical Features of Acute Myeloblastic Leukemia. *Cancer*. 37: 285, 1976.