

APORTACIÓ DE LA CITOGENÈTICA A L'ESTUDI DE LES HEMOPATIES

L.BADIA, F.PRIETO, F.ASENSI

Hospital «La Fe». València

Fins el 1956, a causa de dificultats tècniques, no fou possible conèixer que el cariotip humà normal és format per 46 cromosomes. L'aplicació del mètode de Tjio i Whang¹ a cèl·lules de medul·la òssia de malalts amb leucèmia mieloide crònica demostrà, el 1960², l'existència d'un cromosoma anormal conegut des d'aleshores com «cromosoma Philadelphia» (Ph'). Es tracta d'una alteració citogenètica adquirida la vinculació de la qual a les cèl·lules hematopoètiques permet relacionar-la amb la malaltia. Aquesta trobada fou un bon estímul que durant la dècada dels seixanta impulsà l'estudi citogenètic de malalties hematològiques, si bé la dificultat en aquell temps d'identificar amb precisió els cromosomes fou un important obstacle per a la interpretació dels resultats.

El descobriment de nous mètodes d'identificació dels cromosomes a principi dels anys setanta^{3,5} ha fet possible una valoració més exacta de les alteracions citogenètiques. L'aplicació d'aquests mètodes a cromosomes obtinguts de cèl·lules en diverses hemopaties ens ha portat a l'època actual en la qual, d'acord amb les dades disponibles^{6,7}, tenim evidència de l'orientació diagnòstica aportada per l'estudi citogenètic en hemopaties. Per altra part, en aquells casos en els quals la citologia no és suficientment informativa, pot contribuir a una millor classificació dels processos hematològics i també pot tenir un valor pronòstic.

Avui en dia les troballes obtingudes en aquest camp han fet necessari l'estudi citogenètic juntament amb el morfològic, citoquímic, immunològic i histopatològic, entre les proves a realitzar en els malalts hematològics. La realització coordinada de tots aquests estudis demostra llur caràcter complementari. Els malalts hematològics presenten alteracions citogenètiques que poden detectar-se en cèl·lules d'òrgans hematopoètics (medul·la òssia, ganglis limfàtics, melsa). El cariotip de les cèl·lules d'altres teixits que no participen en la malaltia hematològica és normal, la qual cosa demostra que les alteracions citogenètiques observades en les cèl·lules tumorals són mutacions adquirides.

Mètodes

El mètode directe¹ permet estudiar les metafases tal i com són *in vivo* en els òrgans hematopoètics. Aquest mètode, però, té certes limitacions degudes al propi procés neoplàstic (baix índex mitòtic, mala qualitat dels cromosomes), motiu pel qual en una determinada proporció dels casos (el 18% en la nostra casuística) l'estudi citogenètic no ha pogut valorar-se.

Aquestes dificultats han pogut ser parcialment corregides mitjançant els cultius cel·lulars de 24-48 hores. En ells, sense estimulant antigènic i utilitzant medi de cultiu (RPMI) i sèrum boví fetal al 15%, pot aconseguir-se un lleuger augment de l'índex mitòtic. La influència de factors encara no ben coneguts que puguen estimular o bé inhibir el creixement de les cèl·lules tumorals *in vitro* pot ser el motiu de la mala qualitat dels cromosomes en alguns casos aïllats en el quals no és possible la valoració de l'estudi citogenètic.

Davant qualsevol alteració citogenètica és convenient realitzar també un estudi citogenètic en cèl·lules d'altres teixits que no participen en la malaltia per tal de conèixer el cariotip constitucional (limfòcits estimulats amb fitohemaglutinina, fibroblasts de pell). L'estudi comparatiu de les alteracions citogenètiques detectades en les cèl·lules tumorals i en les constitucionals podria evidenciar relacions entre ambdues per tal de detectar la població de risc.

Identificació dels cromosomes

Amb l'aplicació dels fluorocroms derivats de l'acridina als cromosomes humans, Casperson i col³ descobriren el 1970 un mètode per a produir una seqüència de bandes específiques per a cada parell de cromosomes que permet la seua identificació (bandes Q). Els resultats obtinguts amb aquest mètode estimularen la investigació d'altres substàncies amb capacitat de produir també seqüències en bandes semblants. Aquestes tècniques sotmeten els cromosomes a diversos tractaments (solució amortidora escalfada a 87°C per a las bandes R, o bé tractament amb tripsina per a les bandes G) abans de tenyir amb Giemsa.

Al Congrés Internacional de Genètica Humana celebrat a París⁸ se classificaren aquestes tècniques d'identificació dels cromosomes d'acord amb les bandes que apareixen i els mètodes emprats. Les bandes obtingudes mitjançant la mostassa quinacrina i microscòpia de fluorescència foren designades com bandes Q, aquelles obtingudes amb solucions de colorants Giemsa, després d'un tractament previ que produeix un llistat en bandes similar a aquell de les bandes Q, foren denominades bandes G⁴. Les bandes R⁵ produeixen una seqüència de bandes que és el negatiu de les bandes G. Les bandes C evidencien l'heterocromatina localitzada en els centròmers dels cromosomes i en els 2/3 distals dels braços llargs dels cromosomes Y.

Les metafases obtingudes pel mètode directe o bé cultiu de 24-48 hores són indentificades amb tècniques de bandes^{3,5}. Les cromosomopaties detectades són denominades d'acord amb la terminologia de la Conferència de París⁸. Se considera que una línia cel·lular és hiperdiploide o pseudodiploide quan, almenys, dues cèl·lules identificades tenen la mateixa alteració numèrica o estructural. Per valorar una línia cel·lular com a hipodiploide, però, han de ser tres les cèl·lules identificades amb les mateixes alteracions.

Alteracions citogenètiques en les síndromes mieloproliferatives

Leucèmia mieloide crònica (LMC)

La LMC se caracteritza des del punt de vista citogenètic per presentar un cromosoma acrocèntric, de petites dimensions, conegut amb el nom de Cromosoma Philadelphia (Ph'). Se tracta d'un cromosoma 22 que ha sofert una deleció en la part medial dels braços llargs. El material genètic delecionat d'aquest cromosoma se troba translocat en un autosoma 9. Si bé aquesta translocació (9, 22) ha estat observada en el 90% dels casos, en un 6% dels malalts la translocació té lloc en un cromosoma diferent del 9, o bé forma part de translocacions complexes en les quals participen 3 ó 4 cromosomes. Sols en ocasions excepcionals aquest material genètic delecionat del cromosoma 22 no s'ha vist translocat a cap altre cromosoma.

Des del punt de vista clínic no s'han demostrat diferències significatives entre les LMC que presenten la clàssica translocació i aquelles que les presenten atípiques o complexes.

Alguns pacients amb morfologia cel·lular molt semblant a la LMC no presenten el cromosoma Ph'. Tenen una supervivència més curta i sovint fan més precoçment l'agudització blàstica. Davant d'aquestes diferències entre els casos Ph'+ i les Ph'—, potser es tracte de dos processos diferents encara no ben individualitzats en els quals l'estudi citogenètic pot contribuir a llur diferenciació.

En la fase de crisi blàstica se detecten altres alteracions citogenètiques, les més freqüents de les quals són la trisomia 8, l'isocromosoma 17 de braços llargs i la duplicació del cromosoma Ph'. Aquestes alteracions cromosòmiques poden detectar-se abans de l'aparició de la simptomatologia clínic, raó per la qual poden considerar-se signes indicatius d'una agudització leucèmica imminent.

Modernes tècniques de biologia molecular han demostrat que en les cèl·lules de pacients amb LMC, en produir-se el cromosoma Ph', l'oncogen c-abl, localitzat en la banda q34 del cromosoma 9, és translocat al gen bcr del cromosoma 22 i es produeix un nou gen híbrid abl-bcr que codifica una proteïna específica. Segons recents estudis aquesta proteïna podria tenir una activitat transformant i, en conseqüència, jugar un paper essencial en l'etiologia de la LMC.

Aquest gen híbrid (abl-bcr) ha estat detectat també en algunes LMC Ph' negatives. Per aquesta raó és d'esperar que, en un futur pròxim, l'aplicació sistemàtica de les tecnologies de biologia molecular en les LMC aportarà noves dades d'interès per a un millor coneixement de les LMC classificades fins ara com Ph'+ i Ph'—.

Leucèmies agudes no limfoblàstiques (LANL)

Els estudis citogenètics realitzats fins 1980 en pacients amb LANL demostraren que el 50% dels pacients presentaven alteracions citogenètiques en les cèl·lules leucèmiques. En els darrers anys, l'aplicació del mètode d'alta resolució mitjançant sincronització amb metotrexat⁹, que produeix un major rendiment mitòtic i uns cromosomes de millor qualitat, pareix indicar que el nombre de casos amb alteració citogenètica és superior al 50%, que és l'obtingut amb els mètodes citogenètics convencionals.

Aquestes alteracions són de dos tipus: numèriques i estructurals. Entre les primeres les més freqüents són les trisomies 8, 19, 21 i les monosomies 5, 7 i Y. Poden observar-se com a cromosomopatia aïllada o bé associada a altres alteracions. En altres pacients s'han observat reagrupaments estructurals (translocacions, deleccions, inversions).

L'estudi citogenètic en aquestos pacients també ha palesat una correlació entre supervivència i cariotip. Els casos amb cariotip normal tenen millor pronòstic que no aquells que presenten alteracions citogenètiques. En aquestos darrers hi ha un factor de risc, independentment de l'edat i el nombre de leucòcits.

L'estudi citogenètic en les LANL classificades segons FAB demostra que les alteracions numèriques no són específiques d'un determinat tipus de leucèmia. Malgrat tot, algunes alteracions estructurals poden ser peculiars de determinats tipus (Taula I):

—t(15;17) en leucèmies promielocítiques agudes (LPA)

TAULA I. Alteracions citogenètiques específiques en LANL

Alteració citogenètica	Tipus de leucèmia (FAB)
t(8;21)(q22;q22)	M ₂
t(15;17)(q22;q12)	M ₃ i variants
t/del(11)(q23)	M5a (M5G,M ₄)
inv/del(16)(q22)	M ₄ amb hipereosinofília medul·lar
t(9;22)(q34;q11)	M ₁ , M ₂
t(6;9)(p21;q34)	M ₂ ó M ₄ amb basofília
inv(3)(q21;q26)	M ₁ , M ₂ , M ₄ amb trombocitosi
t(8;16)(p11;p13)	M5G amb fagocitosi
t/del(12)(p11;13)	M ₂ amb basofília
+4	M ₄ y M ₂

La t(15;17) és específica de les leucèmies agudes de tipus promielocític¹⁰, malgrat la seua especificitat, però. aquesta alteració citogenètica sols ha estat detectada en el 41% dels casos en els quals el cariotip ha estat processat pel mètode directe.

Les cèl·lules hematopoètiques normals, sobretot els eritroblasts que de vegades acompanyen l'infiltrat de promielòcits anòmals, poden emmascarar els resultats. Per això, per a una més correcta valoració del cariotip, en les leucèmies de tipus promielocític, en les quals la transformació neoplàstica afecta sèrie mieloide, s'aconsella fer l'estudi citogenètic mitjançant cultiu de 24 ó 48 hores, amb la qual cosa se facilita la proliferació de les cèl·lules leucèmiques i desapareixen els eritroblasts.

Aquesta t(15;17) ha estat trobada també en leucèmies amb morfologia cel·lular no típica de LPA, si bé clínicament evolucionen amb coagulació intravascular. Se tracta de leucèmies que en sang perifèrica presenten blastos amb nuclis bilobulats, multilobulats o arronyonats, amb algunes cèl·lules sense granulació i d'altres amb escassos grànuls fins azuròfils. Actualment aquestes leucèmies, malgrat no tenir la morfologia típica de M₃, són incloses entre aquestes i se consideren formes variants atípiques¹¹.

Les leucèmies agudes tipus promielocític (M₃) i les variants M₃ poden diagnosticar-se per la clínica i per l'estudi citològic. Tot i això, hi ha leucèmies agudes que presenten la t(15;17) sense trets clínics ni citològics de LPA¹². En aquestes leucèmies la transformació neoplàstica s'ha produït en una cèl·lula amb trets morfològics molt immadurs, però amb capacitat per a diferenciar-se cap a promielòcit. L'estudi citogenètic i ultraestructural permet reconèixer aquestes leucèmies com a formes atípiques de M₃.

L'estudi citogenètic en aquestes leucèmies demostra que la t(15;17) és específica de cèl·lules leucèmiques amb diferenciació promielocítica i permet reconèixer aquest tipus de leucèmia, encara que des del punt de vista citològic poden adoptar diverses formes: típica M₃, variant M₃ i atípica M₃.

Algunes LPA en lloc de presentar la típica t(15;17) presenten formes variants¹³ en les quals sempre està implicat el cromosoma 17, però intercanviant el seu material genètic amb un cromosoma distint al 15. Açò suggereix que el punt de trencament en el cromosoma 17 pot tenir la major importància i estar relacionat amb l'origen d'aquestes leucèmies.

—t(8;21) en leucèmies mieloides agudes (LMA)

La segona alteració citogenètica específica de les leucèmies agudes¹⁰ no limfoblàstiques és la t(8;21). En general les leucèmies que presenten aquesta alteració tenen una morfologia cel·lular corresponent a leucèmies mieloides amb maduració (M₂). També pot observar-se aquesta translocació en leucèmies amb morfologia M₄ i M₁.

El 75% de les leucèmies amb aquesta translocació remeten amb el tractament i tenen una supervivència mitjana d'un any. El pronòstic millora quan al costat de cèl·lules amb la translocació n'hi ha d'altres amb cariotip normal. No totes les leucèmies mieloblàstiques amb maduració (M₂) presenten la translocació. La incidència més elevada (58,5%) ha estat observada al Japó, on d'un total de 41 pacients amb LMA (M₂), 24 presentaren la translocació¹⁴.

Freqüentment aquests pacients amb t(8;21) presenten a més a més la pèrdua d'un cromosoma sexual.

—Leucèmies mielomonocítiques agudes amb anomalies del cromosoma 16

Estudis citogenètics en pacients amb leucèmies mielomonocítiques agudes (M₄), que cursen amb hipereosinofília medul·lar i alteracions morfològiques i asincronia madurativa de la granulació, demostren una associació entre aquestes leucèmies i una deleció (del) o inversió (inv) pericèntrica del cromosoma 16. El punt de trencament en ambdues reagrupacions estructurals se troba a nivell de la banda q22. Aquestes trobades suggereixen que l'afectació del material genètic localitzat en aquesta banda pot ésser relacionada amb l'origen de la malaltia¹⁴.

La mitjana de supervivència en aquestes leucèmies està al voltant dels tres anys. Així doncs, es tracta d'un grup de leucèmies amb bon pronòstic.

Algunes leucèmies amb eosinofília medul·lar i morfologia M₄ no presenten aquesta peculiar alteració del cromosoma 16. És possible que aquesta discordança siga deguda a les limitacions pròpies dels actuals mètodes citogenètics. Tot i això, serà necessari l'estudi de més casos per tal de confirmar l'especificat d'aquesta nova associació citològica-citogenètica.

—Altres alteracions citogenètiques estructurals en LANL

Leucèmies agudes del tipus M₅ han presentat deleció terminal dels braços llargs d'un cromosoma 11. Si bé aquesta alteració ha estat detectada en més del 50% dels pacients amb leucèmies monoblàstiques i monocítiques, també s'ha observat en leucèmies agudes no limfoblàstiques corresponents a altres grups de la classificació de FAB.

Per altra banda s'han trobat altres alteracions citogenètiques associades a determinats trets morfològics, com ara: t(6;9) en LAM amb basofília medul·lar; inversió³ (q21-q26) en LAM amb trombocitosi absoluta o relativa; t(8;16) en LAM amb evident eritrofagocitosi; delecio 12p- en un malalt amb LAM-M₂ associada a basofília (Taula I).

Leucèmies agudes secundàries

Les LANL secundàries al tractament d'una primera neoplàsia presenten importants diferències amb les LANL primàries. Aquestes darreres apareixen generalment de forma brusca, sense anar precedides d'una fase preleucèmica o síndrome mielodisplàstica amb afectació de les diverses sèries hematopoètiques, i també tenen una més llarga supervivència. A més, les LANL secundàries al tractament d'un primer tumor rarament presenten translocacions específiques¹⁵ com en el cas de la t(15;17) en la LAP o de la t(8;21) en les LMA amb maduració. Al contrari, sovint presenten complexes alteracions amb hipodiploidia que afecta preferentment els cromosomes 5 i/o 7.

Grups de pacients amb LANL i antecedents d'ocupació professional amb exposició a solvents químics, insecticides, derivats del petroli, etc., solen presentar les següents alteracions: -5, 5q-, t(8;21). Aquests estudis demostren que l'exposició a agents carcinògens s'associa amb alteracions cromosòmiques en les cèl·lules de la medul·la òssia en el moment d'ésser diagnosticada la LANL. Per aquesta raó l'estudi citogenètic, junt amb l'anamnesi, pot col·laborar a conèixer la causa d'algunes LANL.

Policitèmia vera

La majoria dels pacients amb policitèmia vera tenen un cariotip normal. Els casos que presenten alteracions citogenètiques solen haver estat tractats abans de l'estudi. Els cromosomes més freqüentment implicats han estat els cromosomes 1, 8, 9 i 20. Alguns pacients amb policitèmia vera evolucionen cap a la leucèmia, si bé els casos amb alteració citogenètica no pareixen tenir més risc que aquells amb cariotip normal¹⁶.

Preleucèmia i síndromes mieloproliferatives cròniques

En aquest grup s'inclouen síndromes mieloproliferatives cròniques de variada natura: leucèmia mieloide crònica Ph' negativa de l'adult, leucèmia mielomonocítica crònica del lactant, mielosclerosi, mielofibrosi, trombocitosi i les síndromes mielodisplàstiques (SMD).

Els cromosomes més sovint implicats en aquestes síndromes figuren en la Taula II.

En algunes trombocitosis ha estat detectat un cromosoma 21q-. Estudis citogenètics posteriors no han confirmat que aquesta alteració citogenètica siga característica d'aquesta hemopatia.

L'estudi citogenètic en les SMD ha demostrat que en el 50% dels casos apareixen una o varies línies cel·lulars anòmales en les quals són freqüents les alteracions numèriques o estructurals dels cromosomes 5 i 7, de vegades associades a un cariotip amb múltiples alteracions i evolució clonal. En altres ocasions se troben translocacions aïllades o delecions, com en la «síndrome 5q-». Els pacients amb aquesta síndrome¹⁷ presenten anèmia refractària macrocítica amb una sèrie eritroide normal o hipoplàstica, nombre de plaquetes normal o elevat, hipobulació dels megacariocits i absència de sideroblasts.

TAULA II. Alteracions citogenètiques en preleucèmia i síndromes mieloproliferatives cròniques

Mielofibrosi / Mielosclerosi	Trombocitèmia	Síndromes dismieloipoètiques
+8	21q-	-5 12p- -7 t(1;3)(p36;q21) 5q- t(1;7)(p11;p11)
-7	Trisomia 1q	7q- t(2;11)(p21;q23) 11q-

Fins ara n'han estat descrits uns 34 casos. Els trets hematològics que presenten aquestos pacients no són molt cridaners ni són patognomònics de la síndrome «5q-», per la qual cosa pot passar desapercebut si no se fa un estudi citogenètic per tal de reconèixer el cromosoma 5q-.

No és conegut el paper de les alteracions citogenètiques en la producció de les SMD ni tampoc si influeixen o no en la transformació en leucèmies. És evident, però, que l'estudi citogenètic contribueix a un millor coneixement dels estats preleucèmics i col·labora per tal d'establir factors pronòstics.

Les SMD infantils van sovint precedides d'un estat preleucèmic en els quals és una trobada cridanera la citopènia de la sang perifèrica, mantinguda i sense causa justificada. Al llarg de mesos o anys algunes d'aquestes citopènies poden desenvolupar una LANL, i s'incrementa aquest risc quan la citopènia s'acompanya d'alteracions citogenètiques no fortuïtes.

Les alteracions citogenètiques detectades en infants amb SMD són molt semblants a aquelles observades en l'adult. Algunes alteracions citogenètiques, però, com ara el cromosoma 5q-, són menys freqüents en els infants.

Alteracions citogenètiques en les síndromes limfoproliferatives

Leucèmia limfoblàstica aguda (LLA)

En la LLA els cromosomes tenen unes particularitats morfològiques que fan més difícil llur identificació amb tècniques de bandes que en altres neoplàsies.

Els resultats aconseguits fins el 1981 han estat valorats en la Tercera Reunió Internacional sobre Cromosomes en Leucèmies¹⁸. El 66% de casos presentaven alguna alteració cromosòmica. En la Taula III s'arreglen les alteracions citogenètiques més freqüents en la LLA.

—Leucèmies limfoblàstiques amb t(4;11)

La t(4;11) (q21;q23) ha estat observada en leucèmies de cèl·lules blàstiques molt im-madures. Els trets morfològics d'aquestos blastos poden variar des d'un aspecte limfoide a un de monocitoide. De vegades és evident la coexistència de poblacions blàstiques amb diferents fenotips¹⁹. Alguns malalts poden manifestar un fenotip limfoide en el moment del diagnòstic i un de mioide en la recidiva. Així doncs, es tracta de leucèmies amb fenotip mielomonocític latent.

TAULA III. Freqüència d'alteracions citogenètiques en LLA

Cariotip	%
Hipodiploïdia	3,4
<35 cromosomes	
36-45 cromosomes	
Pseudodiploïdia	23,3
t(9;22)	
t(4;11)	
t(8;14)	
14q+	
6q-	
Hiperdiploïdia	
47-50 cromosomes	12,8
51-60 cromosomes	23,4
>60	
Normal	38,1

Aquests resultats suggereixen que la t(4;11) se produeix en una cèl·lula hematopoètica molt primitiva, capaç de diferenciar-se cap a la sèrie limfoide i cap a la sèrie mieloide.

Des del punt de vista citològic i clínic aquestes leucèmies solen cursar amb xifres de leucòcits per sobre els $100 \times 10^9/l$ i organomegàlies que afecten la melsa, fetge i ganglis limfàtics. Per altra banda responen malament a la terapèutica, amb remissions curtes en les quals continua evidenciant-se la t(4;11) en algunes cèl·lules.

—Leucèmies limfoblàstiques Philadelphia (Ph') positives

Representen del 2 al 5% de les leucèmies limfoblàstiques infantils. Són quatre vegades més freqüents en adults que en infants. El material genètic delecionat del cromosoma 22(22q-) en produir-se en cromosoma Ph' en les LLA, en el 50% dels casos està translocat en un cromosoma 9m i es produeix la clàssica translocació (9;22) ja observada en les leucèmies mieloides cròniques (LMC). També poden observar-se translocacions complexes, particularment en infants, amb participació de 3 ó 4 cromosomes. En altres ocasions és evident tan sols el cromosoma 22q(Ph'), sense poder-se precisar on és el material genètic translocat.

Aquestes leucèmies limfoblàstiques Ph' positives responen pitjor al tractament que les LLA Ph'negatives. Quan se consigueix la remissió el cromosoma Ph' desapareix, però és prou freqüent que sols se consegueixca una remissió parcial, en el qual cas han estat detectades metafases Ph' positives i d'altres Ph' negatives⁶.

De vegades és difícil distingir una LLA Ph' positiva de la crisi blàstica limfoide d'una LMC. Per aquest motiu se planteja la qüestió de si la LLA Ph' positiva i la LMC són una mateixa malaltia o dues malalties diferents. En favor que representen diferents manifestacions clíniques d'una mateixa malaltia parlen els pacients que presenten primer una LLA i després d'un temps variable evolucionen cap a una LMC. En canvi, la desaparició del cromosoma Ph' en la LLA després del tractament, la qual cosa s'aconsegueix en rares

ocasions en el cas d'una LMC, suggereix que ambdues leucèmies poden ser diferents malalties.

La majoria de casos de LLA que han presentat la t(9;12)(q34;q11) o formes variants d'aquesta translocació són leucèmies de cèl·lules blàstiques immunològicament catalogades com a cèl·lules B corresponents a les formes indiferenciada ó B-precursora, comuna i pre-B. Totes aquestes adopten una morfologia cel·lular corresponent als grups L₁ ó L₂ de la classificació de FAB (Taula IV).

En molt rares ocasions el cromosoma Ph'ha estat detectat en una LLA de cèl·lules T.

TAULA IV. Tipificació de les LLA segons els estudis morfològic, immunològic i citogenètic

Cariotip	Morfologia	Marcador cel·lulars			Tipus de leucèmia
		Linfoides		Mieloides	
		B	T		
t(4;11)	L ₁ , L ₂	+		+	Indiferenciada Mixta
t(9;22)	L ₁ , L ₂	+			Indiferenciada Comuna Pre-B
t(8;14)		+			
t(2;8)	L ₃	+			Cèl·lules B
t(8;22)		+			
Cromosoma 6q– –del (6) (q15)		+			Comuna
–del (6) (q21)		+			Cèl·lules B
–del (6) (q25)			+		Sistematització de limfoma
Cromosoma 9p– –del (9) (p21)	L ₁ , L ₂		+		Sistematització de limfoma
Quasi haploide 26-28 cromosomes	L ₁ , L ₂	+			Comuna
t(1;19)	L ₁	+			Pre-B
Cromosoma 12p– –del (12) (p12)	L ₁	+			Comuna
Alteraciones estructurales: 14q11	L ₁ , L ₂		+		Sistematización de limfoma

—Leucèmies limfoblàstiques amb t(8;14)

La t(8;14)(q24;q32) fou descrita per primera vegada en limfomes de Burkitt²⁰ i més tard en LLA de cèl·lules B amb morfologia L₃. Per això alguns consideren el limfoma de Burkitt i les LLA de cèl·lules B amb morfologia L₃ com a diferents manifestacions d'una mateixa malaltia. Si bé la t(8;14) és la translocació més freqüent en aquestes neoplàsies, alguns pacients presenten altres translocacions com són t(2;8)(p12;q24) i t(8;22)(q24;q12).

Les tres translocacions tenen en comú la participació d'un cromosoma 8, amb el punt de trencament en totes tres localitzat en la banda q24.

Els casos descrits amb aquestes alteracions citogenètiques han estat classificats citològicament com a processos malignes tipus Burkitt, i tots ells són proliferacions monoclonals de cèl·lules B (Taula IV).

—Leucèmies limfoblàstiques amb cromosoma 6q—

El punt de trencament en el cromosoma 6q— detectat en les leucèmies limfoblàstiques pot estar localitzat en dues bandes diferents: 6q15 i 6q21. La morfologia de les leucèmies amb aquesta alteració citogenètica pot correspondre a les formes L₁ ó L₂. La tipificació immunològica permet incloure-les en el grup comú de les LLA de cèl·lules B (Taula IV). Rares vegades presenten una morfologia L₃.

Un cromosoma 6q— pot detectar-se també en les LLA de cèl·lules T²¹, amb el punt de trencament localitzat en la banda 6q25. Sol tractar-se de limfomes de localització mediastínica que se sistemitzen precoçment a sang perifèrica simulant una leucèmia aguda (Taula IV).

—Leucèmia limfoblàstica amb deleció o translocació de braços curts del cromosoma 9 (9p—).

Un grup de LLA presenta deleció o translocació afectant les bandes p21 i p22 dels braços curts del cromosoma 9. Es tracta de leucèmies amb trets limfomatosos contínuides per cèl·lules tipus T amb morfologia L₁ ó L₂ (Taula IV). Cursen amb adenopaties, esplenomegàlia i leucocitosi. Responen a la terapèutica amb remissions curtes, fent de vegades recidives extramedul·lars (sistema nerviós, testicles).

—Leucèmies limfoblàstiques amb quasi haploide

En els darrers anys ha estat descrit un grup de LLA amb hipodiploidia extrema. El primer cas fou publicat el 1975 amb una dotació de 27 cromosomes. Els casos publicats fins ara han presentat dotacions citogenètiques que oscil·len entre 26 i 28 cromosomes²². La majoria dels casos presenten una morfologia L₁, L₂ i un fenotip c-LLA (Taula IV).

Hi ha un predomini de casos del sexe femení amb edat entre els 5 i els 17 anys. La mitjana de supervivència, inferior a l'any, és baixa en comparació amb la mitjana de supervivència de les leucèmies limfoblàstiques agudes.

—Altres alteracions citogenètiques en les LLA

Entre els pacients amb LLA del grup pre-B s'inclou un grup de leucèmies amb translocació (1;19)(q23;q31) (Taula IV). Tenen morfologia L₁ i clínicament són de mal pronòstic.

En les LLA amb morfologia L₁ i fenotip comú se presenten també translocacions o delecions amb implicació del cromosoma 12 a nivell de la banda 12q12 (Taula IV).

Algunes alteracions citogenètiques estructurals amb implicació del cromosoma 14 i punt de trencament a nivell de la banda 14q11 han estat observades en leucèmies limfoblàstiques de cèl·lules T²¹.

Aquestes alteracions estructurals, entre les quals s'inclou la t(10;14)(q24;q11), suggereixen una especificitat per a neoplàsies de cèl·lules T. És possible que alguns gens localitzats en la banda 10q11 i 10q24 estiguen d'alguna manera implicats en la producció d'algun tipus de leucèmia limfoblàstica de cèl·lules T (Taula IV).

Limfomes

L'alteració citogenètica més freqüentment observada en els limfomes (Taula V) ha estat el cromosoma 14q+, trobat en més del 50% dels casos⁷. Aquest cromosoma es produeix com a conseqüència d'una translocació de material genètic procedent, la majoria de les vegades, d'un cromosoma 8. Així se dona la translocació (8;14)(q24;q32) específica dels limfomes de Burkitt i processos semblants que cursen amb proliferació monoclonal de cèl·lules B. Altres vegades el cromosoma 14q+ se forma en rebre material genètic d'un cromosoma 18 donant lloc a la translocació (14;18)(q32;q24). La gran freqüència amb la qual apareix en limfomes de tipus fol·licular suggereix que aquesta transposició poguera ésser específica d'aquest tipus cel·lular. En altres casos el material genètic translocat al cromosoma 14 procedeix dels autosomes 1, 11, i 6 i de vegades la seva procedència queda desconeguda.

Altres cromosomes afectats en els limfomes han estat els autosomes 1, 3, 8, 6, 11, 17 i 18, que han donat lloc a diferents cromosomopaties: trisomies, monosomies, duplicacions parcials, delecions, translocacions recíproques i d'altres cromosomes marcadors, a més del cromosoma 14q+. El cromosoma 6q-, per exemple, s'ha observat en el 25% dels limfomes. Malgrat aquesta alta freqüència, no es tracta d'una trobada específica, car ha aparegut també en LLA, en línies cel·lulars establertes de pacients amb LLA de cèl·lules T i en síndromes mieloproliferatives.

TAULA V. Alteracions citogenètiques estructurals detectades en limfomes

Alteració citogenètica	Tipus de limfoma
t(8;14)(q23;q32)	Limfoma de Burkitt
t(2;8)(p11;q24)	Limfoma de Burkitt
t(8;22)(q24;q11)	limfoma de Burkitt
t(14;18)(q32;q21)	Limfoma fol·licular
14q+	No específic
6q-	No específic

Leucèmia limfoide crònica (LLC)

La majoria dels estudis citogenètics realitzats fins a 1980 en malalts de LLC han mostrat un cariotip normal. És possible, però, que en molts casos les mitosis no correspongueren a clons cel·lulars vinculats amb la malaltia. La utilització en els darrers anys d'antígens (lipopolisacàrids, pokeweed, virus d'Epstein Barr) que estimulen les cèl·lules B ha aportat uns resultats més reals de les alteracions citogenètiques que presenten els clons cel·lulars

implicats en aquesta i d'altres síndromes limfoproliferatives afins. Aquests estudis citogenètics per conèixer el cariotip en LLC i en leucèmies prolimfocítiques tipus B evidencien certes diferències citogenètiques entre ambdues, la qual cosa suggereix que poden tractar-se de malalties diferents. Mentre que en les LLC se troben sovint cariotips normals i d'altres amb trisomia 12, associats amb una evolució lenta de la malaltia, les leucèmies prolimfocítiques presenten alteracions citogenètiques més complexes, segueixen una evolució clonal, s'associen amb processos més agressius, tenen pitjor pronòstic i responen pitjor a la terapèutica.

Per altra part l'estudi citogenètic realitzat en cèl·lules de la melsa de pacients amb LPL detecta clons anormals que en principi no se detecten en la sang. Aquestes trobades parlen en favor que la melsa pugui ser l'òrgan primàriament afectat en les LPL²³.

Gammapaties monoclonals

La major participació del cromosoma 14q+ en neoplàsies de cèl·lules B i la vinculació d'aquestes cèl·lules amb les gammapaties monoclonals justifica que l'estudi citogenètic d'aquests malalts se faci no sols pel mètode directe, on la majoria de les metafases estudiades corresponen a cèl·lules hematopoètiques normals, sinó també mitjançant cultiu de medul·la òssia estimulants les cèl·lules implicades amb antígens selectius per a les cèl·lules B. Junt al cromosoma 14q+ s'han trobat també alteracions citogenètiques que afecten sobretot els cromosomes 1, 3 i 11⁷.

Aportacions de l'estudi citogenètic a l'hematologia

L'estudi citogenètic en malalties hematològiques pot demostrar alteracions cromosòmiques produïdes en instaurar-se la malaltia, bé que el que no demostra es si tals alteracions en són causa o conseqüència. Aquestes alteracions se limiten a la població cel·lular que participa en el procés neoplàstic. Aquestes cromosomopaties, no fortuïtes, poden ésser de dos tipus:

1. Alteracions citogenètiques primàries o inicials, que són detectades en el moment del diagnòstic. Algunes són específiques d'una determinada neoplàsia, com ara la t(8;21) en les leucèmies mieloblàstiques amb maduració M₂, la t(15;17) en leucèmies promielocítiques agudes M₃, la t(8;14) en limfomes de Burkitt, i la t(4;11) en leucèmies limfoblàstiques agudes.
2. Alteracions citogenètiques secundàries o no específiques, que apareixen en fases avançades de la malaltia i solen anar associades a una sistematització de la neoplàsia (cromosomes marcadors constituïts per material genètic dels braços llargs del cromosoma 1 i l'isocromosoma 17, entre d'altres).

L'estudi citogenètic pot col·laborar al diagnòstic i classificació de les leucèmies: l'observació del cromosoma Ph' permet diferenciar la leucèmia mieloide crònica d'altres síndromes mieloproliferatives. La fase de crisi blàstica de la LMC pot ésser detectada per les alteracions citogenètiques abans que la morfologia cel·lular mostri els trets peculiars del brot agut. L'observació de la t(15;17) en leucèmies que des del punt de vista clínic presen-

ten coagulació intravascular disseminada i morfologia no típica de M_3 ha contribuït que aquestes leucèmies siguin considerades formes variants de M_3 .

L'estudi citogenètic, en permetre el reconeixement d'algunes leucèmies limfoblàstiques agudes amb alteracions citogenètiques típiques, ha fet reconsiderar els protocols terapèutics a la vista de la mala resposta d'aquestes leucèmies al tractament convencional.

En la prevenció de les hemopaties pot jugar també un paper l'estudi citogenètic, car és un mètode idoni per a detectar portadors sans amb el gen mutant responsable de l'anèmia de Fanconi. En un pròxim futur és possible que se detecten també portadors sans d'altres hemopaties amb alteracions citogenètiques constitucionals que se transmeten a la descendència lligades a un mutant.

Bibliografia

1. TJIO JH, WHANG J. Chromosome preparations of bone marrow cells without prior in vitro culture or in vivo colchicine administration. *Stain Technol* 1962; 37: 17.
2. NOWELL PC, HUNGERFORD DA. A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia. *Science* 1960; 132: 1497.
3. CASPERSSON T, ZECH L, JOHANSSON C. Differential banding of alkylating fluorochromes in human chromosomes. *Exp Cell Res* 1970; 60: 315.
4. SEABRIGHT M. A rapid banding technique for human chromosomes. *Lancet* 1971; 2: 971.
5. DUTRILLAUX B, LEJEUNE J. Sur une nouvelle technique d'analyse du caryotype humain. *CR Seances Acad Sci* 1971; 272: 2638.
6. SANDBERG AA. The chromosomes in human cancer and leukemia. New York. Elsevier 1980.
7. MITELMAN F, LEVAN G. Clustering of aberrations to specific chromosomes in human neoplasms. IV. A survey of 1871 cases. *Hereditas* 1981; 95: 79.
8. PARIS CONFERENCE. Standardisation in Human Cytogenetics. Birth Defects. Original Article Series, VIII: 7, 1972 Nueva York: The National Foundation, 1971.
9. YUNIS JJ. Comparative analysis of high-resolution chromosome techniques for leukemia bone marrows. *Cancer Genet Cytogenet* 1982; 7: 43.
10. SECOND INTERNATIONAL WORKSHOP ON CHROMOSOMES IN LEUKEMIA. Leuven, Belgium, October 2-6, 1979. *Cancer Genet Cytogenet* 1980; 2: 89.
11. BENET JM, CATOVSKY D, DANIEL MT, et al. A variant form of hypergranular promyelocytic leukemia (M_3). *Br J Haematol* 1980; 44: 169.
12. PARREIRA L, MATUTES E, MARCUS RE, et al. Atypical promyelocytic leukemia (M_3) with immature primary granules and t(15;17). *Cancer Genet Cytogenet* 1985; 18: 315.
13. THE FOURTH INTERNATIONAL WORKSHOP ON CHROMOSOMES IN LEUKEMIA. *Cancer Genet Cytogenet* 1984; 11: 250.
14. SAKURAI M, SASAKI M, KAMADA N, et al. A summary of cytogenetic, morphologic, and clinical data on t(8q-;21q+) and t(15q+;17q-) translocation leukemias in Japan. *Cancer Genet Cytogenet* 1982; 7: 59.
15. GROUPE FRANÇAIS DE CYTOGÉNÉTIQUE HÉMATOLOGIQUE. Chromosome analysis of 63 cases of secondary nonlymphoid blood disorders: A cooperative study. *Cancer Genet Cytogenet* 1984; 12: 95.
16. NOWELL P, JENSEN J, GARDNER F, et al. Chromosomes studies in "preleukemia". III. Myelofibrosis. *Cancer* 1976; 38: 1873.
17. VAN DEN BERGHE H, CASSIMAN JJ, DAVID G, et al. A distinct hematological disorder with deletion of the long arm of a n° 5 chromosome. *Nature* 1974; 251: 437.
18. THE THIRD INTERNATIONAL WORKSHOP ON CHROMOSOMES IN LEUKEMIA. Chromosomal abnormalities in acute lymphoblastic leukemia: structural and numerical changes in 234 cases anal report on essential thrombocythemia. *Cancer Genet Cytogenet* 1981; 4: 96.
19. SECKER-WALKER LM, STEWART EL, CHAN L. The (4;11) translocation in acute leukemia of childhood: the importance of additional chromosomal aberrations. *Brit J Haematol* 1985; 60: 101.

20. ZECH L, HAGLUND U, NILSSON K, et al. Characteristic chromosomal abnormalities in biopsies lymphoid-cell lines from patients with Burkitt and non-Burkitt lymphomas. *Int J Cancer* 1976; 17: 47.
21. FIRST MIC COOPERATIVE STUDY GROUP. Morphologic, Immunologic, and Cytogenetic (MIC) working classification of acute lymphoblastic leukemias. *Cancer Genet Cytogenet* 1986; 23: 189.
22. BRODEUR GM, WILLIAMS DL, LOOK AT, et al. Near-haploid acute lymphoblastic leukemia: A unique subgroup with a poor prognosis?. *Blood* 1981; 58: 14.
23. PITTMAN SM CATOVSKY D. Chromosomes abnormalities in B-cell prolymphocytic leukemia: A study of nine cases. *Cancer Genet Cytogenet* 1983; 9: 355.