

Técnicas de citogenética para el estudio de las leucemias

Cytogenetic techniques for the study of leukemias

Sheila González García^{1*} <https://orcid.org/0000-0003-1650-0272>

Kalia Lavaut Sánchez¹ <https://orcid.org/0000-0001-6906-2259>

¹Instituto de Hematología e Inmunología. La Habana, Cuba.

*Autor para la correspondencia: rchematologia@infomed.sld.cu

RESUMEN

Introducción: La leucemia se define como un proceso clonal de células hematopoyéticas, que se origina cuando las células sanguíneas que se producen en la médula ósea, cambian y se multiplican sin control. Esta se caracteriza por su heterogeneidad genética y se explica a través de mecanismos causados por alteraciones cromosómicas utilizados en la práctica clínica diaria como biomarcadores útiles para el diagnóstico, el pronóstico o la predicción de respuesta al tratamiento.

Objetivo: Describir las técnicas de citogenética convencional y molecular para el diagnóstico y seguimiento de las leucemias.

Métodos: Se realizó una revisión de la literatura en inglés y español, a través del sitio web PubMed y el motor de búsqueda Google Académico, de artículos publicados en los últimos cinco años. Se hizo un análisis y resumen de la bibliografía revisada.

Análisis y síntesis de la información: En el transcurso de los años la citogenética ha proporcionado información crucial para el diagnóstico y el pronóstico de las neoplasias hematológicas. Tanto las técnicas de citogenética convencional y molecular, como la hibridación *in situ* fluorescente, la hibridación *in situ* fluorescente multicolor, el cariotipo espectral, la hibridación genómica comparada y los microarreglos, participan en el reconocimiento de alteraciones cromosómicas y de genes, así como de interacciones involucradas en el proceso de oncogénesis.

Conclusiones: Las técnicas de citogenética contribuyen al diagnóstico, a la estratificación pronóstica y a la aplicación del tratamiento según el tipo o subtipo de leucemia.

Palabras clave: leucemias; alteraciones cromosómicas; cariotipo; técnicas de citogenética.

ABSTRACT

Introduction: Leukemia is defined as a clonal process of hematopoietic cells, which occurs when blood cells that are produced in the bone marrow change and multiply uncontrollably. This is characterized by its genetic heterogeneity and is explained through mechanisms caused by chromosomal alterations that are used in daily clinical practice as useful biomarkers for diagnosis, prognosis or prediction of response to treatment.

Objective: To describe the conventional and molecular cytogenetic techniques used for the diagnosis and monitoring of leukemias.

Methods: A review of the literature in English and in Spanish was carried out, in the PubMed website and using the search engine Google, for articles published in the last five years. We performed analysis and summary of the reviewed bibliography.

Analysis and synthesis of information: Cytogenetics over the years has provided crucial information for the diagnosis and prognosis of hematologic malignancies. Both conventional and molecular cytogenetic techniques such as fluorescent *in situ* hybridization, multicolor fluorescent *in situ* hybridization, spectral karyotype, comparative genomic hybridization and microarrays, participate in the recognition of chromosomal and gene alterations, as well as interactions involved in the oncogenesis process.

Conclusions: These cytogenetic techniques contribute to the diagnosis, prognostic stratification and application of treatment according to the type or subtype of leukemia.

Keywords: leukemias; chromosomal alterations; karyotype; cytogenetic techniques.

Recibido: 18/01/2022

Aceptado: 21/03/2022

Introducción

Las leucemias constituyen un grupo heterogéneo de enfermedades de naturaleza clonal, derivadas de una célula con una alteración genética, localizada en la médula ósea o el tejido linfoide. Para su clasificación se realizan los exámenes citológicos, inmunohistoquímico, citogenético y molecular.⁽¹⁾

Las leucemias son neoplasias hematológicas que repercuten en el incremento de los índices de mortalidad y morbilidad, con mayor incidencia en edades tempranas y adultos. Según estadísticas recientes, dicha enfermedad tendrá una tendencia a aumentar hasta en 70 % de casos nuevos en los próximos años a nivel mundial.⁽²⁾

Se estima que hay 13,8 nuevos casos de leucemia por cada 100 000 personas al año.⁽³⁾ Aunque el conocimiento cada vez mayor de la citogenética y los aspectos moleculares contribuyen en gran medida a la estimación del pronóstico de un grupo de enfermedades, existe una variabilidad considerable de estos marcadores.

Las hemopatías malignas se caracterizan por presentar gran heterogeneidad genética, la cual se explica por distintos mecanismos, causados por alteraciones cromosómicas numéricas y estructurales, principalmente deleciones, inversiones, duplicaciones o amplificaciones y traslocaciones. Estas alteraciones citogenéticas ocasionan la activación de protooncogenes o la inactivación de genes supresores de tumor que generan inestabilidad genómica.⁽⁴⁾ Muchas de estas aberraciones cromosómicas se utilizan en la práctica clínica como biomarcadores útiles para el diagnóstico, el pronóstico o la predicción de la respuesta al tratamiento.

Hasta los años 70 del pasado siglo, el diagnóstico de las hemopatías malignas se basaba únicamente en el examen histológico y citológico de la médula ósea. En 1985, el grupo cooperativo *Franco-Americano-Británico* (FAB) emitió nuevas propuestas para la clasificación morfológica de las leucemias agudas basada en las características citomorfológicas y citoquímicas. No fue hasta los años 90 que se introdujeron paulatinamente las técnicas inmunofenotípicas, citogenéticas y moleculares, por lo que fue propicio una nueva clasificación de las neoplasias hematológicas.⁽⁵⁾

En el 2008, la Organización Mundial de la Salud (OMS) amplió el número de anomalías citogenéticas ligadas a la clasificación de las neoplasias hematológicas e incluyó para la leucemia mieloide aguda (LMA) alteraciones genéticas que corresponden a translocaciones recíprocas, tales como t(8;21)(q22;q22.1), inv(16) (p13.1q22) o t(16;16) (p13.1;q22), t(15;17) (q22;q12), t(9;11) (p21.3;q23.3), t(6;9) (p23;q34.1), t(3;3) (q21.3;q26.2) o inv(3) (q21.3q26.2) y t(1;22) (p13.3;q13.3).⁽⁶⁾

En el transcurso de las últimas tres décadas, los criterios de diagnóstico y seguimiento en los pacientes con leucemia han evolucionado. En el año 2016 fueron actualizadas las sugerencias de la OMS para las neoplasias hematológicas, donde se incorporaron nuevos marcadores citogenéticos y moleculares.⁽⁷⁾

El objetivo de la presente revisión fue describir las técnicas de citogenética convencional y molecular que se utilizan para el diagnóstico y el seguimiento de los pacientes con leucemias.

Métodos

Se revisó la literatura en los idiomas inglés y español, publicada en los últimos cinco años, a través del sitio web PubMed y el motor de búsqueda Google Académico. Se emplearon las palabras clave: leucemias, alteraciones cromosómicas, cariotipo, técnicas de citogenética.

Análisis y síntesis de la información

Tras la primera evidencia de correlación entre una alteración cromosómica y la aparición del cáncer, por medio de estudios citogenéticos, se ha transitado desde el conocimiento del cromosoma hasta sus cambios en el proceso del cáncer humano. Esto permite la disponibilidad de información, la cual se corrobora con la evidencia de cerca de 55 000 cariotipos asociados a leucemias y tumores, que se encuentra en la base de datos de *Mitelman*, (<https://mitelmandatabase.isb-cgc.org>). Esta recopila información de las aberraciones cromosómicas que aparecen en pacientes con cáncer.⁽⁸⁾

La citogenética del cáncer y en específico de las hemopatías malignas, avanza en su objetivo de relacionar alteraciones recurrentes o específicas con diversos tipos de leucemias y en la actualidad, proporciona información crucial para el diagnóstico y el pronóstico de los pacientes.⁽⁹⁾

El análisis cromosómico se puede realizar por técnicas de citogenética convencional para la obtención del cariotipo de rutina y el de alta resolución, ambas con el uso de la técnica de banda G. Además, se pueden emplear tecnologías de citogenética molecular como: la hibridación *in situ* fluorescente (FISH), la hibridación *in situ* fluorescente multicolor (M-FISH), el cariotipo espectral (SKY), el bandeo multicolor (M-BAND), la hibridación genómica comparada (CGH) y la hibridación genómica comparada en microarreglos (a-CGH o CGH-*array*). Mientras que la citogenética convencional de bandas G permite analizar las alteraciones genéticas de gran tamaño a nivel cromosómico, la FISH detecta alteraciones genéticas de pequeño tamaño en regiones concretas.⁽¹⁰⁾

La identificación de alteraciones estructurales de los cromosomas relacionada con una enfermedad se inició con el descubrimiento del método de bandeo cromosómico. A mediados de los años 50, se estableció el número y la estructura de los cromosomas humanos. Desde ese momento, las tecnologías para la caracterización del cariotipo permitieron un continuo desarrollo en cuanto a su poder de resolución y eficacia.⁽¹¹⁾

El descubrimiento en 1960 del cromosoma Filadelfia como alteración cromosómica en pacientes con leucemia mieloide crónica (LMC), por *Peter Nowell* y *David Hungerford*, demostró por primera vez que el cáncer es resultado de una anomalía genética específica. A partir del desarrollo de las técnicas de bandeo cromosómico *Janet Rowley*, en 1973 precisó que este cromosoma era la consecuencia de la translocación recíproca entre los brazos largos del cromosoma 9 y 22, conformando de esta manera el gen de fusión BCR-ABL. La descripción del cromosoma Filadelfia determinó el comienzo de una nueva era en el campo de la citogenética del cáncer.⁽¹²⁾ En 1973 se desarrolló una nueva metodología basada en la digestión de los cromosomas con tripsina (enzima proteolítica) y posterior tinción con Giemsa. Cada par de cromosomas se tiñe con un patrón distintivo de bandas claras y oscuras. Las bandas oscuras denominadas bandas G ofrecen una mayor resolución que incluye alrededor de 400 bandas entre los 46 cromosomas, lo cual permite detectar pérdidas, ganancias y translocaciones de menor tamaño. La técnica de bandeo cromosómico G es la más utilizada para la obtención de cariotipos y para identificar alteraciones cromosómicas numéricas y estructurales, su introducción constituyó el segundo renacimiento de los estudios citogenéticos en humanos.⁽¹³⁾

El **cariotipo por bandeo G** desempeña un papel importante en el estudio de las anomalías cromosómicas adquiridas. Permite la detección de grandes alteraciones genómicas, incluidas aneuploidías, reordenamientos estructurales cromosómicos equilibrados y desequilibrados de al menos 5 a 10 Mb de tamaño, como también mosaicismos. Las alteraciones cromosómicas que impliquen un menor tamaño de ADN no pueden ser evaluadas mediante un cariotipo estándar. Para obtener un mayor grado de resolución de las bandas se emplea el cariotipo de alta resolución. Esta técnica consiste en obtener cromosomas con un menor grado de compactación, que es lo mismo que decir, con una mayor longitud. Al aplicar el bandeo G, se observa un mayor número de bandas, lo cual permite evaluar microarreglos cromosómicos.⁽¹⁴⁾

La utilización de la citogenética convencional se consideró obligatoria para el estudio inicial de todas las leucemias,⁽⁵⁾ a partir de las sugerencias actualizadas de la OMS en el año 2016 para las neoplasias hematológicas, donde se incorporaron nuevos marcadores citogenéticos y moleculares,⁽⁷⁾ por su utilidad en el diagnóstico, la clasificación y el pronóstico.

Sin embargo, la necesidad de trabajar con células en división, la calidad en ocasiones deficiente de los cromosomas en metafase, la contaminación de las muestras, la gran cantidad de anomalías citogenéticas complejas y crípticas, así como la resolución a veces relativamente baja del bandeo G, son factores limitantes para un estudio completo y preciso de los cromosomas.⁽¹⁵⁾

A pesar de estas desventajas la identificación de las alteraciones cromosómicas mediante la citogenética convencional en la LMA al debut, brinda una importante información pronóstica,

pues permite estratificar a los pacientes en diferentes grupos. Los pacientes con alteraciones citogenéticas como: cariotipos complejos, monosomía 5/del(5q), monosomía 7/del(7q) o alteraciones de 3q presentan una supervivencia global menor, así como mayor recaída de la enfermedad.⁽¹⁶⁾

La detección del cromosoma Filadelfia en la LMC y la leucemia linfocítica aguda (LLA) contribuye al diagnóstico y proporciona parámetros de pronóstico útiles para la evaluación del tratamiento.⁽¹⁷⁾

La introducción de la citogenética molecular ayuda a superar algunas de las limitaciones del bandeo cromosómico, pues permite la detección e identificación precisa de un gran número de anomalías cromosómicas como las microdeleciones, las reorganizaciones cromosómicas complejas y las reorganizaciones crípticas.⁽⁴⁾

Hibridación *in situ* fluorescente

La FISH es la técnica que detecta secuencias de ADN en células o tejidos preservados mediante el empleo de una sonda (fragmento de ADN homólogo a la secuencia blanco) marcada con un fluorocromo, la cual va dirigida hacia un lugar específico del ADN y emite fluorescencia que puede ser observada por medio de un microscopio de epifluorescencia. Esta se fundamenta en la capacidad que poseen los ácidos nucleicos para hibridarse entre sí, es decir, la existencia de determinada secuencia de ADN, que resulta complementaria con otra.⁽¹⁸⁾

Dicha metodología es de gran valor para mapear loci en cromosomas específicos, detectar anomalías cromosómicas tanto numéricas como estructurales y revelar anomalías crípticas. Ha superado muchos de los inconvenientes de la citogenética convencional, como el carente rendimiento de células de la muestra, el bajo índice mitótico, las metafases de mala calidad y el requerimiento de células metafásicas para la visualización de los cromosomas.⁽¹⁹⁾ Actualmente, la FISH se utiliza como una herramienta indispensable para la detección de reordenamientos estructurales como translocaciones, inversiones, inserciones, microdeleciones y para la identificación de cromosomas marcadores, así como la delimitación de los puntos de ruptura cromosómicos.⁽²⁰⁾ Por lo tanto, este procedimiento presenta mayor sensibilidad y precisión que el análisis del cariotipo al unir la citogenética convencional con la molecular.

Según el diseño de la sonda de hibridación específica, la FISH puede ser: centromérico (ADN alfa satélite), locus específico, subtelomérico de brazos cortos y/o largos y de pintado cromosómico (hibrida en todo el cromosoma).⁽¹⁵⁾ Además, existen técnicas de FISH más complejas basadas en la combinación de sondas marcadas con diferentes fluorocromos, de

manera que es posible identificar cada cromosoma con un color diferente (cariotipo espectral) o bien cada banda de un solo cromosoma (*Multibanding*). Estas tecnologías sirven para resolver anomalías complejas y/o cromosomas marcadores, no identificables por la citogenética convencional.⁽²¹⁾

La FISH puede utilizarse como una herramienta vital para seleccionar una terapia dirigida hacia los diferentes tipos de leucemias. La aplicación de sondas locus específico, permite el diagnóstico y la evaluación de la respuesta al tratamiento en pacientes con LMC, así como detectar patrones de hibridación atípicos del reordenamiento del gen de fusión BCR/ABL con influencia en el pronóstico de la enfermedad.

Ocurre de igual forma, en el diagnóstico de la leucemia promielocítica (LPM) con la detección de la $t(15;17)(q22;q12)$ y la posibilidad del diagnóstico de otras variantes de LPM en las que el cromosoma 15 no se encuentra involucrado por el patrón de señales diferente que genera, como la $t(11;17)(q23;q21)$, $t(11;17)(q13;q21)$ y la $t(5;17)(q35;q21)$. En la LLA permite la detección del gen de fusión ETV6/RUNX1, así como la identificación de patrones atípicos de hibridación y el diagnóstico de la amplificación intracromosómica del 21 (iAMP21). La posibilidad de utilizar más de una sonda centromérica de forma simultánea, además de aumentar la sensibilidad de la técnica, constituye un excelente medio para monitorear clones hiperdiploides en la LLA.^(16,17)

Una metodología similar se utiliza para la detección de la $t(8;21)(q22;q22.1)$ y otras alteraciones citogenéticas específicas descritas en la clasificación de la OMS del 2008 para la LMA, como la inversión del cromosoma 16 ($inv16(p13.1q22)$) y los reordenamientos en 11q23.⁽⁶⁾

En la leucemia linfocítica crónica (LLC) la FISH, permite detectar alteraciones cromosómicas y estratificar grupos pronósticos con implicación clínica y terapéutica; ejemplo de ello son las deleciones 13q, 17p y los rearrreglos en 11q, entre otras.⁽²⁰⁾

Técnicas derivadas del FISH convencional

Las nuevas tecnologías de FISH aportan una mayor información que permite una completa caracterización del cariotipo. Dichas metodologías comprenden entre otras, el M-FISH, el SKY, el M-BAND, el CGH y el CGH-*array*. Todas ellas son herramientas muy útiles para su aplicación en el diagnóstico citogenético. Sin embargo, hay que tener en cuenta el elevado costo que supone realizar estos análisis, la complejidad de la interpretación de los resultados, las dificultades en la estandarización, el control de calidad y la necesidad de personal especializado para el uso de unas

técnicas que, en la mayoría de los casos, no sustituyen a los estudios citogenéticos clásicos, sino que los amplían y complementan.⁽²²⁾

Técnicas de FISH multicolor

La aplicación rentable de las sondas de FISH convencional requiere un conocimiento o sospecha previa de los loci o cromosomas involucrados en la anomalía. Esta limitación queda subsanada por la M-FISH. Permite la visualización de todos los cromosomas de una misma metafase, de forma simultánea, pintando cada pareja de cromosomas homólogos de un color distinto, es decir, permite el análisis directo de todos los cromosomas en un único experimento de FISH.⁽²³⁾

La M-FISH emplea simultáneamente un cóctel de 24 sondas de pintado cromosómico que hibridan todos los cromosomas de una misma metafase, lo que permite una rápida identificación de las 22 parejas homólogas de autosomas y los cromosomas sexuales. Se obtiene un cariotipo en colores que permite detectar y clasificar, de forma rápida, alteraciones numéricas y estructurales intercromosómicas que provocan un cambio en el patrón característico de pintado de cada cromosoma.⁽²⁴⁾

Paralelamente, en 1996 se desarrolló una metodología similar a la M-FISH, que permitía obtener el denominado cariotipo espectral o SKY. Ambas tienen una resolución de 1 Mb aproximadamente. La diferencia entre ellas radica en el modo de adquisición y análisis de las imágenes. Mientras la M-FISH utiliza filtros ópticos específicos para la captura de cada fluorocromo en particular, el SKY hace uso de un interferómetro para realizar una interpretación basada en el espectro píxel a píxel a lo largo de todo el cromosoma.⁽²⁵⁾

Estas técnicas tienen la ventaja de combinar la sensibilidad de la FISH con una visión global de las alteraciones cromosómicas presentes en un único experimento (característica del análisis citogenético convencional). Sin embargo, estas tecnologías no permiten el reconocimiento de algunos puntos de rotura, como aquellos asociados con deleciones, inserciones, y translocaciones de pequeño tamaño, para los cuales es necesario utilizar sondas locus específico.⁽²²⁾

La tecnología M-FISH tiene diferentes aplicaciones en el estudio de las leucemias, por ejemplo: se utiliza en la LMA para diagnosticar anomalías citogenéticas, que se basan en una diferencia cuantitativa detectable de una señal de hibridación; también la incorporación del uso de sondas de fusión o ruptura ha permitido el uso de esta tecnología en la medición de la fusión BCR-ABL (cromosoma Filadelfia) en la LMC y de la fusión PML-RAR α en la LPM.⁽²⁶⁾

Los cariotipos complejos con alteraciones primarias y secundarias que presenten marcadores cromosómicos, son difíciles de identificar con el bandeo G convencional. Es por ello, que la M-

FISH se ha convertido en una herramienta indispensable en el reconocimiento de cromosomas marcadores y de complejas translocaciones y arreglos estructurales.⁽²⁶⁾

En pacientes con LLA que presentan una hiperdiploidía elevada y morfología cromosómica deficiente, el SKY permite una caracterización precisa de todas las aberraciones numéricas y del origen cromosómico de los segmentos implicados en los reordenamientos estructurales inter cromosómicos.⁽²⁷⁾ En estudios realizados a pacientes con la $t(12;21)(p13;q22.3)$, el SKY pudo detectar translocaciones desequilibradas no aleatorias del cromosoma 6. Tanto el SKY como el M-FISH, mejoran en gran medida la precisión de la interpretación del cariotipo, especialmente en pacientes con reordenamientos cromosómicos muy complejos. Ambas técnicas proporcionan una evaluación general de todo el genoma.^(28,29)

Bandeo multicolor

Permite la diferenciación de regiones cromosómicas específicas a nivel de banda cromosómica. Se basa en ensayos individuales para cada par de cromosomas homólogos, lo cual permite detectar inversiones y reorganizaciones intracromosómicas. Con esta técnica, independientemente de la condensación cromosómica, se obtiene una resolución de 500 bandas.⁽⁹⁾

El M-BAND facilita el mapeado de los puntos de rotura y permite identificar inversiones pericéntricas y paracéntricas, sin embargo no detecta microdeleciones. Como ejemplo de su aplicación se reporta que el uso complementario de las técnicas de M-BAND y M-FISH, junto con sondas subteloméricas y locus específico, logró la caracterización precisa del cariotipo complejo de un paciente con LLA y ETV6 / AML1 positivo. Aunque la implicación de los cromosomas 1, 10, 12, 13 y 21 fue evidente en los cariotipos de banda G y M-FISH, se requirieron sondas subteloméricas para descubrir un intercambio críptico de telómeros dentro de este reordenamiento complejo.^(28,30)

Hibridación genómica comparada

La hibridación genómica comparada permite el rastreo de desequilibrios globales presentes en el genoma en una única hibridación y sin necesidad de obtener células en división. Ha sido la primera tecnología combinada de citogenética y FISH que ha permitido realizar un análisis global del genoma. Aunque inicialmente se describió como un valioso método para el análisis de desequilibrios en el número de copias de ADN en tumores, en la actualidad es de gran utilidad para el análisis de desequilibrios cromosómicos constitucionales a partir de cualquier tipo de muestra.⁽²⁰⁾

La CGH consiste en marcar el ADN genómico de la muestra problema y el de un individuo control con fluorocromos distintos y cohibridarlos en presencia de ADN sobre una preparación cromosómica de un individuo normal. Las señales fluorescentes son detectadas y analizadas mediante análisis digital haciendo uso de un software específico. De este modo se pueden analizar las regiones de copia única de cada cromosoma. A partir del análisis de un mínimo de entre 10 y 12 metafases se obtiene el valor promedio y se generan los perfiles de ganancias y pérdidas (por encima del umbral de 1,25 se considera ganancia y por debajo de 0,75 pérdida).⁽²²⁾ La CGH detecta un amplio rango de desequilibrios del genoma, que incluyen duplicaciones y deleciones a nivel de banda o sub-banda cromosómica en una única hibridación y con muy poca cantidad de ADN (de 200 ng a 1 µg). Su ventaja principal es la identificación de pequeños desequilibrios genéticos sin necesidad de obtener metafases. Entre las limitaciones que presenta se destaca la imposibilidad de detectar anomalías cromosómicas equilibradas (como translocaciones o inversiones) o aquellas que afectan a regiones pericentroméricas, teloméricas o ricas en heterocromatina. También hay problemas de identificación en aquellos casos en los que el desequilibrio cromosómico se presenta como un mosaicismo inferior al 30 %. Estas limitaciones evidencian la necesidad de combinar la CGH con las técnicas citogenéticas clásicas y la FISH.⁽⁹⁾

Hibridación genómica comparada en microarreglos

En los últimos años, se han obtenido clones derivados de cromosomas humanos (BAC/PAC) que colocados en portaobjetos de vidrio dan lugar a matrices que permiten el análisis de cromosomas enteros, de porciones de cromosomas, de regiones específicas y del genoma completo. Los microarreglos genómicos han sido diseñados para su aplicación en la CGH, lo que ha mejorado la resolución de la CGH convencional y ofrece así la posibilidad de valorar la presencia de ganancias y/o pérdidas submicroscópicas en todo el genoma.⁽¹⁵⁾

El CGH- *array* se basa en el mismo principio de una CGH convencional pero los cromosomas metafásicos son sustituidos por fragmentos de ADN clonados (100-200 Kb), de los cuales se conoce su localización exacta. Puede tratarse de cromosomas artificiales de bacterias (BAC-*array*) pero también se utilizan como dianas de hibridación: secuencias generadas por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés), clones de ADN complementario y oligonucleótidos. La relación entre los dos genomas marcados se compara en imágenes computarizadas mediante un *software* específico.⁽¹⁰⁾

El CGH-*array* de todo el genoma da un único perfil en el que se representan todos los cromosomas. Sin embargo, tiene una limitación importante, ya que si las deleciones no se encuentran localizadas en un clon determinado no se detectan. La utilización de BACs (>8000 BACs, vinculados a dianas conocidas) permite asociar directamente las alteraciones detectadas a marcadores genéticos/genómicos y por lo tanto a regiones cromosómicas muy específicas. Los microarreglos de oligonucleótidos pueden llegar a un grado de resolución del gen tal que permite la detección de mutaciones producidas por deleciones y duplicaciones a nivel de bases. Esta tecnología es una de las más prometedoras ya que proporciona el denominado “cariotipo molecular”. El CGH-*array* ofrece varias ventajas respecto a la citogenética convencional y a la FISH ya que, además de no requerir cultivo celular, no precisa tampoco de una diana y posee una alta resolución, sensibilidad y rapidez. Sin embargo, al igual que la CGH no proporciona información sobre alteraciones equilibradas.⁽³¹⁾

El uso de los microarreglos es esencial para la práctica clínica ya que permiten la identificación de anomalías genómicas no detectadas cuando se utilizan otras metodologías de diagnóstico; como en la LLC, la LLA y la LMA.⁽³²⁾ En la LLA se reportan varios tipos de alteraciones cromosómicas que tienen valor pronóstico bien conocido y es posible su detección mediante los microarreglos. Con dicha técnica se localizan pérdidas muy relacionadas clínicamente con genes como: CDKN2A/B, ETV6, PAX5 y IKZF1, que se asocian con la expresión y regulación de genes, lo cual contribuye a la transformación neoplásica en la hematopoyesis. Los avances tecnológicos de las plataformas de microarreglos permiten un mayor conocimiento para la comprensión de los procesos de leucemogénesis, el diseño de blancos terapéuticos y ofertar una medicina personalizada.⁽³³⁾

Estudios de investigación que han aplicado la metodología de CGH-*array* en la LMC identificaron regiones asociadas a pérdidas preferentemente en 1p36, 5q21,9p21 y 9q34 y ganancias en 8q24, 9q34, 16p y 22q11. Estos desbalances genómicos por defecto o exceso se detectaron en casos con aceleración de la enfermedad respecto de la fase crónica y posibilitaron investigar el perfil genómico de alta resolución (1Mb) en un momento determinado o estadio de la enfermedad. De esta manera, se evidencia que la CGH-*array* permite sacar conclusiones sobre los cambios genéticos involucrados en la evolución clonal de una patología.⁽³⁴⁾

Las diferentes técnicas utilizadas en el estudio de las leucemias, desde la citogenética convencional basada en el análisis de las bandas G de los cromosomas en metafase, hasta las tecnologías de citogenética molecular, todas con sus ventajas e inconvenientes pueden ser utilizadas de forma complementaria y no excluyentes. La citogenética aporta una información

importante como valor diagnóstico y pronóstico, así como la posibilidad de utilizar tratamientos más precisos en los pacientes con neoplasias hematológicas.

Referencias bibliográficas

1. Almeida AL, Azevedo IC, Carvalho DP, Vitor AF, Santos VE, Ferreira Júnior MA. Clinical and epidemiological aspects of leukemias. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter. 2017 [acceso: 01/07/2021];33(2). Disponible en: <http://www.revhematologia.sld.cu/index.php/hih/article/view/511>
2. Pérez KP. Caracterización inmunofenotípica y citogenética de pacientes con leucemia mieloide aguda Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas. [tesis] Lima: Universidad Nacional Federico Villarreal; 2018. [acceso 01/07/2021]. Disponible en: <http://repositorio.unfv.edu.pe/bitstream/handle/UNFV/1945/PerezVasquezKellyPatricia.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
3. Sitlinger A, Brander DM, Bartlett DB. Impact of exercise on the immune system and outcomes in hematologic malignancies. Blood Adv. 2020;4(8):1801-11. DOI: <https://10.1182/bloodadvances.2019001317>
4. Torres E. Ventajas y limitaciones de la citogenética en la medicina actual. Mem Inst Investig Cienc Salud. 2018;16(2):107-12. DOI: [https://10.18004/Mem.iics/1812-9528/2018.016\(02\)107-112](https://10.18004/Mem.iics/1812-9528/2018.016(02)107-112)
5. Amor AM, Hernández LL, Díaz CA, Fernández L, Ruíz V, Garrote H. La biología molecular en la precisión diagnóstica de las leucemias. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter. 2018 [acceso 01/07/2021];34(3). Disponible en: <http://www.revhematologia.sld.cu/index.php/hih/article/view/882>
6. Swerdlow S, Campo E, Harris N, eds. WHO classification of tumors of haematopoietic and lymphoid tissue. 4th ed. Lyon, France: IARC Press; 2008.
7. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, BorowitzMJ, Le Beau MM, *et al.* The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. Blood. 2016;127(20):2391-405. DOI: <https://10.1182/blood-2016-03-643544>
8. Hussain IS, Ghulam JM. Advances in Malignant Hematology. Chichester: Wiley; 2011. [acceso 01/07/2021]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/292070853Advances_in_Malignant_Hematology
9. Becerra JA, López JB. Citogenética del cáncer; alteraciones cromosómicas útiles para el diagnóstico oportuno y pronóstico en neoplasias linfoproliferativas. Rev Fac Cienc. 2020;9(1):25-54. DOI: <https://doi.org/10.15446/rev.fac.cienc.v9n1.74595>

10. Kang JU. Medical Implementation of Microarray Technology. Korean J Clin Lab Sci. 2020;52:310-6. DOI: <https://10.15324/kjcls.2020.52.4.310>
11. Blackmon H, Justison J, Mayrose I, Goldberg E. Meiotic drive shapes rates of karyotype evolution in mammals. Evolution. 2019;73(3):511-23. DOI: <https://10.1111/evo.13682>
12. Hernández M, Dueñas JE. Frecuencia del cromosoma Filadelfia en niños con leucemia linfoblástica aguda. Rev Mex Pediatr. 2020;87(5):170-5. DOI: <https://10.35366/97170>
13. Arber DA, Orazi A. Diagnosis and classification of the acute leukemias and myelodysplastic syndromes. En: Greer JP, Rodgers GM, Glader P, Arber DA, Means RT, List AF, *et al.* Wintrobe's clinical hematology. 14th edition. Saint Louis, Missouri: Wolters Kluwer; 2019. p.4851-84.
14. Huebner T, Scholl C, Steffens M. Cytogenetic and Biochemical Genetic Techniques for Personalized Drug Therapy in Europe. Diagnostic. 2021;11(7):1169. DOI: <https://doi.org/10.3390/diagnostics11071169>
15. Hernando C. Caracterización de anomalías cromosómicas en diagnóstico prenatal y postnatal mediante técnicas de citogenética molecular. [tesis]. Barcelona: Universidad Autónoma de Barcelona; 2006. [acceso 01/07/2021]. Disponible en: <https://www.tdx.cat/handle/10803/3761?show=full>
16. Lavaut K. Citogenética de las hemopatías malignas en la era de la secuenciación. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter. 2020 [acceso 01/07/2021];36(3). Disponible en: <http://www.revhematologia.sld.cu/index.php/hih/article/view/1243>
17. Cherry AM, Bangs CD. Cytogenetics. En: Greer JP, Rodgers GM, Glader P, Arber DA, Means RT, List AF, *et al.* Wintrobe's clinical hematology. 14th ed. Saint Louis, Missouri: Wolters Kluwer; 2019. p. 304-12.
18. Young AP, Jackson DJ, Wyeth RC. A technical review and guide to RNA fluorescence in situ hybridization. Peer J. 2020; 8:e8806. DOI: <https://10.7717/peerj.8806>
19. Zumoffen C. Hibridación in situ fluorescente Laboratorios CIBIC. 2017 [acceso 01/07/2021]. Disponible en: <http://www.cibic.com.ar/laboratorios-bioquimicos/hibridacion-in-situ-fluorescente-fish/>.
20. Blog de CEDIE. Citogenética convencional y molecular. [actualizado 2021]; [acceso 01/07/2021]; Disponible en: <https://cedie.conicet.gov.ar/citogenetica/>
21. Veselinyová D, Mašlanková J, Kalinová K, Mičková H, Mareková M, Rabajdová M. Selected In Situ Hybridization Methods: Principles and Application. Molecules. 2021;26(13):3874. DOI: <https://10.3390/molecules26133874>

22. Riegel M. Human molecular cytogenetics: From cells to nucleotides. *Genet Mol Biol Mar.* 2014;37(1 Suppl):194-209. DOI: <https://10.1590/s1415-47572014000200006>
23. Shakoori AR. Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) and Its Applications. *Chromosome Structure and Aberrations.* 2017:343-67. DOI: https://10.1007/978-81-322-3673-3_16
24. Pathak R, Koturbash I, Hauer M. Detection of Inter-chromosomal Stable Aberrations by Multiple Fluorescence In Situ Hybridization (mFISH) and Spectral Karyotyping (SKY) in Irradiated Mice. *J Vis Exp.* 2017 (119):55162. DOI: <https://10.3791/55162>
25. Binz RL, Tian E, Sadhukhan R, Zhou D, Hauer M, Pathak R. Identification of novel breakpoints for locus- and region-specific translocations in 293 cells by molecular cytogenetics before and after irradiation. *Sci Rep.* 2019;9(1):10554. DOI: <https://10.1038/s41598-019-47002-0>
26. Tirado CA, Goodman BK. Acta Cancerológica. En: Multicolor FISH: Una herramienta de gran utilidad en el monitoreo de leucemia mieloide aguda y otras malignidades hematológicas. *Acta Cencerol.* 2003 [acceso 01/07/2021];32(1):40_4. Disponible en: https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/acta_cancerol%C3%B3gica/v32_n1/multi_fish.htm
27. Mrózek K, Harper DP, Aplan PD. Cytogenetics and Molecular Genetics of Acute Lymphoblastic Leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2009;23(5):991. DOI: <https://10.1016/j.hoc.2009.07.001>
28. Mraz M, Kozubik KS, Plevova K, Musilova K, Tichy B, Borsky M, *et al.* The origin of deletion 22q11 in chronic lymphocytic leukemia is related to the rearrangement of immunoglobulin lambda light chain locus. *Leukemia Res.* 2013;37(7):802-8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.leukres.2013.03.018>
29. Shahjehani M, Hadad EH, Azizidoost S, Nezhad KC, Shahrabi S. Complex karyotype in myelodysplastic syndromes: Diagnostic procedure and prognostic susceptibility. *Oncol Rev.* 2019;13(1):389. DOI: <https://10.4081/oncol.2019.389>
30. Kalkan R. The Use of Molecular Cytogenetic Techniques for the Identification of Chromosomal Abnormalities. *Intech Open;* 2017 [acceso 01/07/2021]. Disponible en: <https://www.intechopen.com/chapters/54502>
31. Leeksma AC, Baliakas P, Moysiadis T, Puiggros A, Plevova K, Van der Kevie-Kersemaekers AM, *et al.* Genomic arrays identify high-risk chronic lymphocytic leukemia with genomic complexity: a multi-center study. *Hematológica.* 2021;106(1):87-97. DOI: <https://10.3324/haematol.2019.239947>
32. Blog de Genotipia. Análisis citogenómicos aplicados a neoplasias hematológicas: recomendaciones preanalíticas, analíticas y postanalíticas. 2021 [acceso 01/07/2021]; Disponible en: <https://genotipia.com/guias/guia-analisis-citogenomicos-neoplasias-hematologicas/>

33. Lapirra I. Citogenética humana: del microscopio al microchip. Hematología. 2011 [acceso 01/07/2021];15(2):27-34. Disponible en: <http://www.sah.org.ar/revista/numeros/vol15.n2.27-34.pdf>
34. Bint SM, Davies AF, Ogilvie CM. Multicolor banding remains an important adjunct to array CGH and conventional karyotyping. Mol Cytogenet. 2013;6(1):55. DOI: <https://10.1186/1755-8166-6-55>

Conflicto de intereses

Los autores no declaran conflictos de intereses.

Contribuciones de los autores

Sheila González García: Realizó recopilación de toda la bibliografía utilizada, seleccionó los artículos relevantes para la revisión. Hizo aportes importantes a la concepción del artículo, la redacción del borrador, la revisión crítica de su contenido intelectual y la aprobación final de la versión que va a publicarse.

Kalia Lavaut Sánchez: Realizó recopilación de toda la bibliografía utilizada, seleccionó los artículos relevantes para la revisión. Hizo aportaciones importantes a la concepción del artículo, la redacción del borrador, la revisión crítica de su contenido intelectual y la aprobación final de la versión que va a publicarse.