
Caietele laboratorului de hematologie clinică

CITOGENETICA CLASICĂ ÎN HEMOPATIILE MALIGNE

Conf. dr. **Nicoleta Mariana BERBEC**

Dr. **Mircea Ovidiu Denis LUPUȘORU**

Prof. dr. **Delia MUT POPESCU**



EDITURA MEDICALĂ
București, 2019

© Editura Medicală, 2019

Toate drepturile editoriale asupra ediției românești aparțin în exclusivitate Editurii Medicale. Publicația este protejată integral de legislația internă și internațională. Orice valorificare a conținutului în afara limitelor acestor legi și a permisiunii editorilor este interzisă și pasibilă de pedeapsă. Acest lucru este valabil pentru orice reproducere – integrală sau parțială, indiferent de mijloace (multiplicări, traduceri, microfilmări, precum și la stocarea și prelucrarea în sistem electronic).

Descrierea CIP a Bibliotecii Naționale a României

Citogenetica clasică în hemiopatiile maligne / conf. dr. Nicoleta Mariana

Berbec, dr. Mircea Ovidiu Denis Lupușoru, prof. dr. Delia Mut Popescu.

- București: Editura Medicală, 2019

Conține bibliografie

ISBN 978-973-39-0842-5

I. Berbec, Nicoleta Mariana

II. Lupușoru, Mircea

III. Mut Popescu, Delia

616

CUPRINS

Introducere	7
Nomenclatura și clasificarea anomaliilor cromozomiale	9
Tehnica obținerii preparatelor citogenetice	19
Anomalii cromozomiale în hemopatii maligne	29
Anomalii cromozomiale în neoplazmele mieloproliferative cronice	30
Anomalii cromozomiale în sindroame limfoproliferative cronice	35
Anomalii cromozomiale descrise în leucemiile acute mielo- blastice	47
Anomalii cromozomiale descrise în leucemiile acute limfo- blastice.....	54
BLIBLIOGRAFIE	65

Redactor: **Corina GHINOIU**

Secretar de redacție: **Maria Elena NEAMȚ**

Tehnoredactor: **Florina ALEXE**

NOMENCLATURA ȘI CLASIFICAREA ANOMALIILOR CROMOZOMIALE

Cromozomii sunt suportul materialului genetic. Pe de o parte, reprezintă suportul eredității și, pe de altă parte, suportul organizării vieții celulare.

Reprezintă suportul eredității, pentru că fiecare pereche de cromozomi omologi conține un cromozom matern și un cromozom patern (de unde rezultă diploidia); copia exactă a ansamblului trece pe urmă la fiecare celulă fiică, din generație în generație celulară.

Viața celulară poate fi bulversată – fie în cursul embriogenezei (și apar anomaliile cromozomiale constituționale), fie în cursul unui cancer (anomaliile cromozomiale dobândite).

Nomenclatura

O celulă somatică umană conține în mod normal 46 cromozomi, repartizați în 7 grupe (A→G).

Din cei 46 de cromozomi, 22 de perechi sunt autozomi – notați de la 1 la 22 în funcție de talia lor descrescătoare –, și o pereche de gonozomi sau cromozomi sexuali (XX la femeie și XY la bărbat).

Cromozomul este format dintr-un **centromer** (CEN) unde se află kinetocorul – centrul organizării microtubulilor –, responsabil de fixarea cromozomilor la fusul mitotic în cursul mitozei și **2 cromatide** surori ce sunt unite în zona heterocromatică de fiecare parte a centromerului.

De o parte și cealaltă a centromerului, o cromatidă prezintă **2 brațe: brațul scurt** sau brațul **p**, deasupra centromerului, și **brațul lung** (brațul **q**) situat sub centromer.

Fiecare braț se termină prin telomere (pter și qter), secvențe ADN repetitive înalt conservate cu rolul de a împiedica

fuziunea cu alți cromozomi. Tot aceste secvențe au rol în atașarea telomerelor la anvelopa nucleară, în particular în timpul meiozei. Scurtarea telomerelor este un fenomen cunoscut, legat de îmbătrânirea celulară.

În funcție de lungimea brațelor există:

1. cromozom metacentric – brațele p și q au aproximativ aceeași lungime (exemplu, cromozomul 3);
2. cromozom sub-metacentric – brațul p este mai scurt decât brațul q (exemplu, cromozomul 6);
3. când brațul p este și mai scurt, cromozomul se numește sub-telocentric (cromozomul Y);
4. dacă brațul p este foarte mic, cromozomul se numește acrocentric (perechile 13, 14, 15, 21, 22). Acrocentricii poartă pe brațele scurte heterocromatină și regiunile implicate în organizarea nucleolară (NOR) și codante pentru ARN-ul ribozomal.

Fiecare braț este în mod arbitrar divizat în regiuni, notate de la 1 la 4 (pentru anumii cromozomi) plecând de la nivelul centromerului.

Fiecare regiune este împărțită în benzi (entități vizibile – deschise sau închise la culoare – după utilizarea unei tehnici de denaturare).

Fiecare bandă poate fi divizată, dacă este necesar, în sub-benzi (cromozomi în profază, mai puțin condensați, și arătând, deci, mai multe detalii).

Localizarea va fi definită prin numărul cromozomului, urmat de litera care indică brațul implicat, urmată de numărul regiunii, al benzii și al sub-benzii.

Clasificarea anomaliilor cromozomiale

Anomaliile cromozomiale pot fi:

I. În funcție de modul de afectare a materialului cromozomic:

1. *de număr* – cromozomi supranumerari (trisomie) sau lipsă (monosomie);

2. *de structură* – dacă există rupturi cromozomiale și alipiri eronate:
 - echilibrate (nu există pierdere sau câștig de material genetic) și
 - dezechilibrate (dacă rezultă o deleție și/sau o duplicare a fragmentului).

3. *de stabilitate*.

II. În funcție de momentul apariției:

1. *Constituționale*:

- diferitele organe („ansamblul individului”) poartă aceeași anomalie;
- accidentul cromozomial exista deja la embrion; el s-a produs înainte de fecundare, într-unul din gameți, sau puțin după aceea, într-o celulă a zigotului;
- subiectul purtător, dacă anomalia este non-echilibrată, are frecvent un dismorfism și/sau malformații viscerale, și/sau un retard psihomotor (triada).

2. *Dobândite*:

- un singur organ atins, restul organelor sunt normale;
- accidentul cromozomial s-a produs în cursul vieții individului;
- este dobândit în raport cu cariotipul constituțional;
- în general, individul este purtător al unui proces malign pe organul implicat.

III. În funcție de numărul liniilor celulare afectate:

1. *Omogene*

- Toate celulele țesutului examinat poartă aceeași anomalie:
- trisomia 21 omogenă se va regăsi în toate celulele copilului;
 - t(9;22) din leucemia granulocitară cronică (LGC); anomalia dobândită în cursul unei leucemii poate fi prezentă în toate celulele sanguine studiate ale pacientului – dacă celulele sanguine normale sunt suficient inhibate.

2. În mozaic

Anumite celule ale țesutului examinat sunt cu anomalii cromozomiale iar altele sunt normale.

- 46,XY/47,XY,+21 (anomalia constituțională survenită la zigot după mai multe diviziuni celulare nu va atinge decât o parte din celulele embrionului);
- 46,XY/46,XY,t(4;11) – anomalie dobândită apărută în cursul unei leucemii acute limfoblastice (LAL) ce poate fi prezentă doar în anumite mitoze.

I.1. Anomalii de număr

A. Număr de cromozomi apropiat diploidiei:

1. Variații globale:

- Hiperdiploidie (mai mult de 46 cromozomi);
- Hipodiploidie (mai puțin de 46 cromozomi).

2. Variații privind o pereche de cromozomi:

- Trisomie (cromozomii sunt supranumerari);
- Monosomie (lipsește un cromozom dintr-o pereche);
- Nulosomie (lipsește ambii cromozomi ai unei perechi);
- Dublă trisomie (două perechi de cromozomi au câte un cromozom supranumerar);
- Tetrasomie (2 cromozomi supranumerari pentru o pereche de cromozomi).

B. Număr de cromozomi multiplu de 23:

- Triploidie: 69,XXY;
- Tetraploidie: 92,XXYY;
- Poliploidie: Se observă în special în linia megacario-citară, care realizează numeroase cicluri de sinteză a ADN-ului, fără diviziune celulară.

I.2. Anomalii de structură

Aceste remanieri comportă una sau mai multe rupturi, urmate sau nu de „lipirea” extremităților libere. Cromozomul se lipește cum era înainte (reditus ad integrum) sau „lipirea” este eronată, cu apariția unei aberații.

Apariția rupturilor cromozomiale, compensate prin acțiunea sistemelor de reparație este un fenomen celular banal. Cel mai frecvent, locul de ruptură nu se găsește într-o secvență codantă și nu provoacă mutație.

Cromozomii remaniați sunt frecvent denumiți derivați (der) și derivatul poartă numărul cromozomului care posedă centromer.

Remanierarea poate fi:

- Echilibrată (este conservată euploidia);
- Dezechilibrată (antrenează pierdere sau exces de gene).

Tipuri de anomalii de structură

REMANIEREA UNUI CROMOZOM

1. **Deleție** – reprezintă pierderea unui segment cromozomial, ce implică pierderea de gene existente pe acest segment (monosomie parțială) și poate fi:

- Terminală – segmentul pierdut conține telomere;
- Interstițială;
- Macrodeleție;
- Microdeleție.

Este o remanieră dezechilibrată și se notează **del**, urmată de numărul cromozomului în prima paranteză. Apoi, în a doua paranteză, se notează cele 2 puncte de ruptură, indicând regiunea deletată (deleția interstițială). În cazul deleției terminale este notat un singur punct de ruptură, deși prin tehnici de biologie moleculară s-a demonstrat recent că toate delețiile ar fi de tip interstițial (un cromozom nu poate fi stabil dacă nu poartă la extremități telomere, care „închid” cromozomul).

2. **Inel** – reprezintă deleția mai mult sau mai puțin întinsă a două extremități ale unui cromozom și relipirea segmentului

intermediar – prin absența telomerelor –, ceea ce dă naștere la o structură inelară (există și inele acentrice, dar sunt rapid pierdute, ca orice fragment ce nu posedă centromer).

Este o remaniere dezzechilibrată și se notează cu **r**, urmat de numărul cromozomului într-o paranteză și apoi de o a doua paranteză, unde se indică punctele de ruptură, dacă acestea sunt localizabile.

3. **Izocromozom** – o ruptură transversală la nivelul centromerului separă brațele scurte și lungi ale cromozomului; dedublarea brațelor scurte sau lungi are ca rezultat un cromozom metacentric format din două brațe lungi sau scurte (echivalentul unei monosomii pentru un braț și al unei trisomii pentru celălalt), fiind o remaniere dezzechilibrată.

Se notează cu **i** urmat de o paranteză indicând numărul cromozomului implicat și litera brațului duplicat. (Exemplu: **i(17q)** – pierderea brațului **p** și duplicarea brațului **q**).

4. **Duplicare** – un segment cromozomial se repetă de două ori, în tandem (segmentul duplicat păstrează aceeași orientare ca segmentul original) sau în oglindă (segmentul duplicat ia o orientare inversă segmentului original), rezultând o trisomie parțială. Este de asemenea o remaniere dezzechilibrată.

Se notează **dup**, urmată de numărul cromozomului într-o primă paranteză, apoi în a doua paranteză se trec punctele de ruptură, indicând regiunea duplicată.

5. **Inversiune** – două rupturi izolează un fragment cromozomial, care pivotează cu 180° înainte de alipire.

Se notează **inv**, urmat de numărul cromozomului într-o paranteză, apoi o altă paranteză indică punctele de ruptură.

Inversiunile, când se produc, sunt remanieri echilibrate, indivizii sunt fenotipic normali.

Inversiunea poate fi:

a. *inversiune paracentrică* – dacă segmentul unui braț al unui cromozom se rupe (2 rupturi pe același braț) și se relicește pe același braț;

b. *inversiune pericentrică* – un cromozom se rupe de o parte și de alta a centromerului (o ruptură pe fiecare braț) și se relicește de o manieră eronată.

REMANIEREA A DOI CROMOZOMI

Translocația robertsoniană – fuziunea centrică a doi acrocentrici –, antrenează pierderea de heterocromatină a brațelor scurte, fără a fi resimțită asupra fenotipului, dar cu scăderea numărului de cromozomi, dând naștere la un cromozom dicentric. Unul din cele 2 centromere este în general inactivat, permițând cromozomului remaniat să se comporte ca un monocentric, fără probleme de segregare în anafază.

Cromozomul remaniat comportă în toate cazurile brațele lungi ale celor 2 acrocentrici, în timp ce brațele lungi sunt în general pierdute. Se poate spune că în acest caz cariotipul este echilibrat pentru că pierderea brațelor scurte a 2 acrocentrici este fără răsunet fenotipic.

Cariotipul purtătorului cu fenotip normal comportă atunci 45 de cromozomi.

Se notează **t**, urmat de o paranteză indicând numărul fiecărui cromozom urmat de litera **q** – exemplu: **t(14q21q)**.

Fuziunea centrică reprezintă anomalia cromozomială cea mai frecventă în populația umană.

Translocație reciprocă – schimbul și alipirea segmentelor cromozomiale după ruptura a doi cromozomi ce conduc la formarea a doi cromozomi derivați. Este o remaniere echilibrată.

Se notează **t**, urmat de o paranteză indicând numerele cromozomilor implicați – separate prin punct-virgulă – și o a doua paranteză, indicând punctele de ruptură de pe fiecare cromozom.

Insertie – un fragment cromozomial se rupe, regiunile ce delimitează acest fragment se realipesc și fragmentul se reinserează în alt loc, fie pe același cromozom, fie pe un altul, fiind o remaniere echilibrată.

Se notează cu **ins**, urmat de o paranteză cu numărul cromozomului ce primește inserția, urmată eventual de punct-virgulă și numărul cromozomului donor (dacă nu este același cromozom), apoi o a doua paranteză, indicând punctul de inserție urmat de punct-virgulă, numai dacă cromozomul donor nu este același, urmat de punctul de ruptură a fragmentului – exemplu: **ins(5;2)(p12;q31q34)**.

O inserție poate fi directă (dir ins) dacă fragmentul păstrează orientarea în raport cu centromerul sau poate fi inversată (inv ins).

Translocație în tandem – doi acrocentrici fuzionează rămânând în același sens; centromerul cromozomului alipit dispare.

Fuziune telomerică – doi cromozomi fuzionează la nivelul telomerelor, producând un cromozom dicentric; unul din centromere este inactivat.

Dicentric – un cromozom ce posedă 2 centromere, fiind o remaniere dezzechilibrată. Se notează **dic** sau **psu dic** (pseudodicentric) când cele 2 centromere sunt inactive.

REMANIEREA A MAI MULT DE 2 CROMOZOMI

Remanierea a mai mult de 2 cromozomi se poate realiza prin:

- Dublă translocație;
- Translocație cu 3 sau mai mulți cromozomi (translocații complexe). Se realizează prin transferul de segmente în lanț între cromozomii implicați.

Tehnicile FISH au arătat că aceste translocații complexe sunt relativ frecvente.

Translocațiile complexe pot interveni în orice moment al vieții, fiind implicate în apariția cancerelor.

REMANIERI COMPLEXE

Remanierea complexă implică mai mult de 2 cromozomi și/sau mai mult de 3 puncte de ruptură. Frecvența purtătorilor malformați în descendență este crescută (importanța sfatului genetic). Sunt frecvent întâlnite în multe tumori solide și limfoame.

MARKER

Fragment cromozomial ce nu poate fi recunoscut, notat Mar:

- fie mic element suplimentar în cariotipul constituțional, cu sau fără răsunet fenotipic (probleme în diagnosticul prenatal);

- fie element de talie variabilă prezent într-un proces canceros. Tehnicile FISH au arătat că acesta reprezintă cromozomi foarte remaniati, ce cuprind segmente de cromozomi variați.

FRAGMENT MINUS; HSR

Fragment minus (notat DM – double minute) = foarte mici elemente suplimentare, frecvent două, acentrice, în general foarte numeroase.

HSR (homogeneously staining region) = este o regiune de colorație omogenă și de talie variabilă, frecvent importantă, prezentă în sânul unuia sau mai multor cromozomi (experimental poate apărea după o expunere cronică toxică).

DM și HSR sunt corelate cu prezența unei amplificări genice importante și apar în procese maligne, în special în tumori solide. [2]

I.3. Anomalii de stabilitate

INSTABILITATEA CROMOZOMIALĂ

Situsurile fragile constituționale:

- Sindromul X fragil – cu expresie fenotipică, mai ales, la bărbați;

- Alte situsuri fragile nu au expresie fenotipică.

Sindroame genetice cu instabilitate cromozomială constituțională:

- Anemia aplastică Fanconi;
- Sindromul Bloom;
- Ataxie-telangiectazie.