

CARACTERIZACIÓN CITOGENÉTICA POR CGH ARRAYS Y FISH DE LAS CÉLULAS STEM MESENUQUIMALES DE PACIENTES CON SÍNDROME MIELODISPLÁSICO

O. López Villar^a, F.M. Sánchez-Guijo^a, J.L. García^b, E. Villarón^a, N.F. Graciani^a, N. López-Holgado^a, J.A. Pérez Simón^a, J. San Miguel^a, M.C. del Cañizo^a

^a Servicio de Hematología. Hospital Universitario de Salamanca. ^b Centro de Investigación del Cáncer. Universidad de Salamanca.

Introducción: Los síndromes mielodisplásicos (SMD) son un grupo de enfermedades clonales de la célula stem hematopoyética. El micromedioambiente medular desempeña un papel importante en la fisiología de la hematopoyesis y las células stem mesenquimales (MSC) son el componente principal del estroma. Los trabajos sobre el papel de las MSC en la fisiopatología de los SMD y su análisis citogenético han sido controvertidos. Hasta el momento se han estudiado por cariotipo e hibridación in situ fluorescente (FISH).

Objetivo: Caracterizar MSC obtenidas de médula ósea de pacientes con SMD por dos técnicas: arrays de hibridación genómica comparada y FISH, para valorar si presentan alteraciones citogenéticas y si alguna de ellas es clonal.

Métodos: Se incluyeron en el estudio 13 pacientes con SMD de nuevo diagnóstico. El diagnóstico se estableció de acuerdo con la clasificación de la OMS: síndrome 5q- (n=7), AR (n=2), ARSA (n=1) y RAEB-II (n=3). En las células hematopoyéticas al diagnóstico se realizó cariotipo y FISH, con estos resultados: 5q- (n=7), trisomía cromosoma 8 (n=2) y cariotipo normal (n=4). Las MSC se obtuvieron plantando las células mononucleadas de MO en medio DMEM suplementado con 10% de suero bovino fetal y se expandieron según procedimiento habitual, hasta tercer pase en que se tripsinizaron para realizar inmunofenotipo y estudios citogenéticos. La identificación se realizó según las recomendaciones de la ISCT (inmunofenotipo y diferenciación). Se realizó CGH-arrays en 11 casos y FISH en 5 (en 3 casos se realizaron ambas técnicas). Los resultados de las alteraciones no clonales se confirmaron por FISH para 1q31 y PCR para p53.

Resultados: Las MSC presentaron un crecimiento lento, comparado con los controles. Mostraron marcadores fenotípicos característicos con una pureza >98%, con menor expresión de moléculas de adhesión. Todos los casos analizados por CGH-arrays mostraron cambios genómicos. Las alteraciones más frecuentes fueron la ganancia de 1q31q32, presente en el 72% de los casos, la ganancia en 6q14 en el 64% y la pérdida de 5q31 en el 46% de los casos. El estudio mediante FISH confirmó la amplificación a nivel de 1q31 utilizando una sonda específica del BAC de 1q31. En relación con las pérdidas, en 3 casos se observó delección en 17p12 y la delección de p53 fue confirmada por PCR. Teniendo en cuenta los casos de síndrome 5q-, observamos que en el 50% las MSC presentaban delección de 5q. Se realizó FISH en 3 casos de síndrome 5q- y en 2 pacientes, uno diagnosticado de AR y el otro de ARSA, con trisomía 8, y las mismas alteraciones estaban presentes en las MSC.

Conclusión: Las MSC de SMD presentan alteraciones cromosómicas al ser analizadas mediante CGH-arrays. Incluso se han encontrado alteraciones clonales al realizar ambas técnicas citogenéticas. Este es el primer estudio que ha mostrado las ganancias y pérdidas en el DNA de las MSC de los SMD por CGH-array. Las alteraciones también se han confirmado por FISH y PCR.