

APLICACIÓN DE LA TÉCNICA DE SNP ARRAY EN PACIENTES DIAGNOSTICADOS DE SMD CON CARIOTIPO NORMAL

M. Mallo¹, M. Rodríguez-Rivera¹, C. O’Keefe², E. Puigdecant³, L. Arenillas¹, C. Pedro⁴, B. Espinet¹, M. Salido¹, L. Nonell⁵, M. Mascaró⁵, E. Luño⁶, C. Melero¹, L. Florensa¹, J. Maciejewski², F. Solé¹
¹Laboratori de Citogenètica Molecular. Laboratori de Citologia Hematològica. Servei de Patologia. Hospital del Mar. GRETNHE. IMIM (Hospital del Mar Research Institute). Barcelona. ²Department of Translational Hematology and Oncology Research. Taussig Cancer Institute. Cleveland Clinic. Cleveland, Ohio (EE UU). ³Servei d’Anàlisi de Microarrays. IMIM-Hospital del Mar. Barcelona. ⁴Servei d’Hematologia Clínica. Hospital del Mar. GRETNHE. IMIM (Hospital del Mar Research Institute). Barcelona. ⁵Servei d’Hematologia. Hospital Son Llàtzer. Palma de Mallorca. ⁶Servicio de Hematología. Hospital Central de Asturias. Oviedo

Antecedentes: Más del 50% de los síndromes mielodisplásicos (SMD) no presentan alteraciones citogenéticas mediante citogenética convencional. Los arrays de SNPs (SNP-A: *single nucleotide polymorphism array*) sirven de técnica complementaria al estudio citogenético de los SMD. Su principal ventaja es el análisis global del genoma (de alta resolución) en un único estudio. Permite la detección de alteraciones en el número de copias (principales alteraciones citogenéticas de los SMD) y/o pérdidas de heterocigosidad adquiridas (LOH). El principal objetivo del estudio es la aplicación de la técnica de SNP-A en pacientes con SMD y cariotipo normal, para una mejor caracterización de este subgrupo de pacientes.

Pacientes y métodos: Se han estudiado 35 casos diagnosticados de SMD (con cariotipo normal) mediante SNP-A (Genome-Wide Human SNP Array 6.0, Affymetrix®). Todas las muestras fueron estudiadas a partir de médula ósea obtenida en el momento del diagnóstico. De 9 pacientes, se disponía además ADN de la línea germinal (linfocitos CD3+ aislados de sangre periférica). Los parámetros de análisis que se aplicaron fueron: mínimo de 10 marcadores alterados en una región de 100Kb. Los criterios de exclusión que se tuvieron en cuenta eran los descritos por Maciejewski *et al.* (Br J Haematol, 2009). Además, se excluyeron alteraciones de la línea germinal a partir de una base de datos de controles internos (n=1003) proporcionada por “Translational Hematology and Oncology Research Department” de Cleveland Clinic (USA).

Resultados: El análisis de SNP-A mostró alteraciones en el 48.6% de los pacientes. Las alteraciones observadas fueron: 14 microduplicaciones, 10 microdelecciones, 1 delección y 5 LOH. Los cromosomas más alterados por orden de frecuencia fueron: cromosoma 4, 5 y 3, seguidos de los cromosomas 2, 6, 11 y 12.

La **Tabla 1** muestra los diagnósticos (FAB y OMS 2008), el cariotipo y los resultados de los SNP-A.

Conclusiones: 1) Basándonos en nuestros resultados, podemos afirmar que los SNP-A permiten una mejor caracterización citogenética de los SMD con cariotipo normal. Sin embargo, aún está por determinar su implicación clínica y pronóstica. 2) El análisis de muestras pareadas (tumoral y control) permite la detección de alteraciones con mayor precisión.

Tabla 1. Diagnóstico, cariotipo y resultados de los SNP-A de los SMD con cariotipo normal							
	Diagnóstico		Cariotipo	ADN control (Linfocitos CD3+)	Resultados de SNP-A		
	FAB	OMS 2008			Alteraciones del nº de copias	Citobanda	Tamaño (kb) Genes relevantes
1	AR	CRDM	46,XY[20]	No	Ganancia	5q13.2q13.3	774 -
					Pérdida	6q22.31	172 -
					Pérdida	17p13.2	843 -
2	AREB	AREB-2	46,XX[14]	No	Pérdida	17q11.2	3129 NF1
					Pérdida	17q21.32q21.33	2714 -
					Pérdida	17q25.2q25.3	567 SEPT9
					Ganancia	5p14.1p13.3	2347 -
3	AREB	AREB-2	46,XX[20]	No	Ganancia	12q24.12	182 -

4	AR	CRDM	46,XY[20]	Sí	Ganancia	11p11.2	116	-
5	ARSA	CRDM	46,XY[20]	Sí	-	-	-	-
6	ARSA	-	46,XY[20]	No	LOH	4q13.1q22.1	30407	-
7	-	CRDM	46,XY[20]	No	LOH	18q23qter	3151	-
8	-	CRDM	46,XY[20]	No	Pérdida	5q21.1	104	-
9	AREB	AREB-1	46,XY[20]	No	Ganancia	9p24.2	191	-
10	AREB	AREB-1	46,XY[20]	No	Pérdida	10p15.3	163	-
11	AR	CRDM	46,XY[20]	Sí	-	-	-	-
12	AR	CRDU	46,XY[31]	No	-	-	-	-
13	-	CRDM	46,XY[20]	No	Ganancia	11p11.2	116	-
14	AR	CRDM	46,XX[34]	Sí	Pérdida	4q24	404	TET2
15	AR	CRDM	46,XX[20]	Sí	-	-	-	-
16	-	CRDM	46,XX[20]	No	-	-	-	-
17	-	CRDM	46,XX[20]	No	-	-	-	-
18	AREB	AREB-1	46,XX[12]	No	-	-	-	-
19	AR	CRDU	46,XX[20]	No	-	-	-	-
20	ARSA	ARSA	46,XX[20]	No	Pérdida	2p23.3	906	DNMT3A
21	AREB	AREB-1	46,XY[20]	No	Ganancia	12q13.11	177	-
					Pérdida	3pter21.31	49088	-
					Ganancia	6p22.1	1067	-
					Ganancia	6p21.2	105	-
					Ganancia	13q11q12.11	2891	-
22	-	CRDM	46,XX[20]	No	Ganancia	13q12.13q12.2	1283	FLT3
23	AREB	AREB-2	46,XX[20]	No	-	-	-	-
24	AREB	AREB-1	46,XY[20]	Sí	-	-	-	-
25	-	CRDM	46,XY[12]	No	-	-	-	-
26	ARSA	CRDM	46,XY[20]	No	-	-	-	-
27	ARSA	CRDM	46,XX[20]	No	Ganancia	4p12	129	-
28	AR	CRDM	46,XY[20]	Sí	LOH	3q26.1qter	38327	-
29	AREB	AREB-1	46,XY[20]	No	Pérdida	2q36.3	173	-
					LOH	4q35.1qter	7344	-
					LOH	5pter15.33	3796	-
30	ARSA	CRDM	46,XY[20]	No	-	-	-	-
31	ARSA	ARSA	46,XX[20]	No	Ganancia	14q13.2	110	-
32	AR	CRDM	46,XX[20]	Sí	-	-	-	-
33	ARSA	CRDM	46,XX[20]	No	-	-	-	-
34	AR	CRDM	46,XY[20]	No	-	-	-	-
35	AR	CRDM	46,XX[20]	No	-	-	-	-

Abreviaturas: FAB: French-American-British; OMS: Organización Mundial de la Salud; AR: anemia refractaria; CRDM: citopenia refractaria con displasia multilineal; AREB: anemia refractaria con exceso de blastos; ARSA: anemia refractaria con sideroblastos en anillo; CRDU: citopenia refractaria con displasia unilineal; LOH: pérdida de heterocigosidad adquirida.

Agradecimientos. Este estudio ha sido parcialmente financiado por las siguientes becas: FI07/00107, RD07/0020/2004 (RTICC, FEDER), PI07/2009 y 2009 SGR541 (DIUE, Generalitat de Catalunya). Colaboración de Celgene España.