

# *Avances en técnicas diagnósticas en urología*

## *Genética*

Luis IZQUIERDO LÓPEZ y Santiago VALOR GARCÍA  
Centro de Investigaciones Genéticas, Madrid  
Servicio de Análisis Clínicos,  
Hospital Universitario San Carlos, Madrid

### 1. INTRODUCCION

La genética humana es el estudio científico de la variación en la especie humana, mientras que la genética médica es la aplicación de éstos estudios a la práctica médica.

Con el control de los factores ambientales que provocan enfermedades en el mundo desarrollado, las enfermedades en las cuales los mecanismos genéticos juegan un papel central o parte del mismo, han centrado la atención en todas las parcelas de la ciencia médica. Aunque la humanidad siempre tuvo conocimiento de las diferencias entre los individuos, de que los hijos suelen parecerse a sus padres y que ciertas enfermedades ocurrían más frecuentemente en ciertas familias, las bases científicas de estas observaciones han sido descubiertas en los últimos 150 años. La aplicación clínica de estos conocimientos es aún más reciente, estando confinados los progresos a los últimos 25 años.

Podríamos dividir estos veinticinco años en el desarrollo de las tres ramas de la genética Médica. En el primer tercio, desde los inicios de la década de los 60 hasta mitad de los setenta, el desarrollo de la citogenética, luego el de la genética bioquímica y en la pasada década la explosión de la genética molecular, lo que ha sido llamado como la «Nueva Genética», término acuñado por David Comings, editor del American journal of Human genetics, al comentar un artículo que diseñaba una nueva aplicación al uso del análisis de ADN para el mapeo del genoma humano, y por tanto, de enorme importancia clínica.

El desarrollo de las técnicas de biología molecular han permitido el conocer la estructura de los genes y determinar su función en el laboratorio.

Esto ha conducido al desarrollo de la genética médica a la comprensión de las enfermedades a nivel de su patología molecular, uno nivel de precisión en el diagnóstico difícilmente previsible hace 10 o 15 años.

En este capítulo abordaremos los últimos avances en los métodos diagnósticos utilizados en el laboratorio de genética médica aplicables a la urología.

Actualmente, los métodos diagnósticos utilizados en genética, no sólo se utilizan en el diagnóstico de las enfermedades hereditarias o cromosómicas, sino que su aplicación ha alcanzado el campo de la oncología, ya que el cáncer no es más que la consecuencia de una acumulación de cambios genéticos que ocurren en un clon de células.

También interesa a la Urología las causas cromosómicas de infertilidad masculina, campo éste en el que la conjunción de las técnicas citogenéticas y de análisis del ADN (hibridación «in situ») nos han permitido un mayor nivel de precisión diagnóstica.

## 1. FUNDAMENTOS DE LAS TÉCNICAS UTILIZADAS EN GENÉTICA MEDICA

### 1.1. Análisis del ADN

El fundamento del análisis genético en las enfermedades hereditarias se basa en la diversidad en la secuencia de bases del ADN de un individuo a otro, a su herencia mendeliana, así como a la estructura del ADN, compuesto de una doble cadena complementaria.

La variación en la secuencia del ADN entre dos individuos se debe a que el código genético es un código degenerado, es decir, tripletes de base distintas van a codificar un mismo aminoácido, y por tanto, una proteína con idéntica función, y a la existencia dentro del genoma de fragmentos que no codifican, es decir, no se traslada su código al m-RNA y por tanto no tienen influencia en la formación de una proteína. Estas zonas silentes se denominan intrones y su secuencia de bases puede variar de un individuo a otro, así como entre los dos cromosomas del mismo par de un individuo.

Las enzimas de restricción, que son enzimas encontradas en las bacterias utilizadas por éstas para defenderse ante la incorporación de ADN extraño, digieren el ADN por unos sitios determinados dependiendo del tipo de enzima. Por ejemplo, Eco RI reconoce dentro de un fragmento de ADN la secuencia **G-A-A-T-T-C**, cortando entre la primera base y la segunda y entre la quinta y la sexta en la hebra complementaria. Existirán cromosomas de individuos en la población que tengan esta secuencia de bases en un determinado intrón de un gen que nos interese y otros que no lo tendrán. Ahora bien, aquellos que tengan esta secuencia (sean sanos o enfermos), lo transmitirán con un 50% de posibilidades a sus hijos (así como el gen que nos interesa).

Supongamos una secuencia de un fragmento de ADN compuesto por las bases **AATTCAA**ACT**GAATTCCGGT**GGA**ACCGAATTC**, a esta secuencia en una de las hebras del ADN corresponderá su complementaria, pues siempre a una base A en una de las hebras corresponde una base T en la contraria, así como a una C corresponde una G. La secuencia complementaria a la anterior será:

**CTTAAGTTTGACTTAAGGCCACCTTGGCTTAAG**

Esta secuencia podría encontrarse en uno de los intrones (secuencias que no codifican) del gen responsable de la enfermedad renal poliquística del adulto que sabemos que está localizada en el cromosoma 16. Si el ADN de un paciente afecto por esta enfermedad lo digerimos con EcoRI obtendremos tres fragmentos de ADN de distinto tamaño, dos correspondientes al cromosoma que porta la secuencia de reconocimiento para la enzima y otro mayor del otro cromosoma que no porta este lugar de reconocimiento (Figura 1).

Estos fragmentos de ADN, debido a su diferente tamaño, podemos separarlos mediante electroforesis trasladando luego estos fragmentos del gel a una membrana de nylon mediante capilaridad (Southern blotting).

Como hemos señalado anteriormente, las bases A siempre se unen a una base T y las C a las G. Este principio nos sirve, para, separando las dos hebras de los fragmentos del ADN que hemos transferido a una membrana de nylon, poder localizarla mediante una sonda.

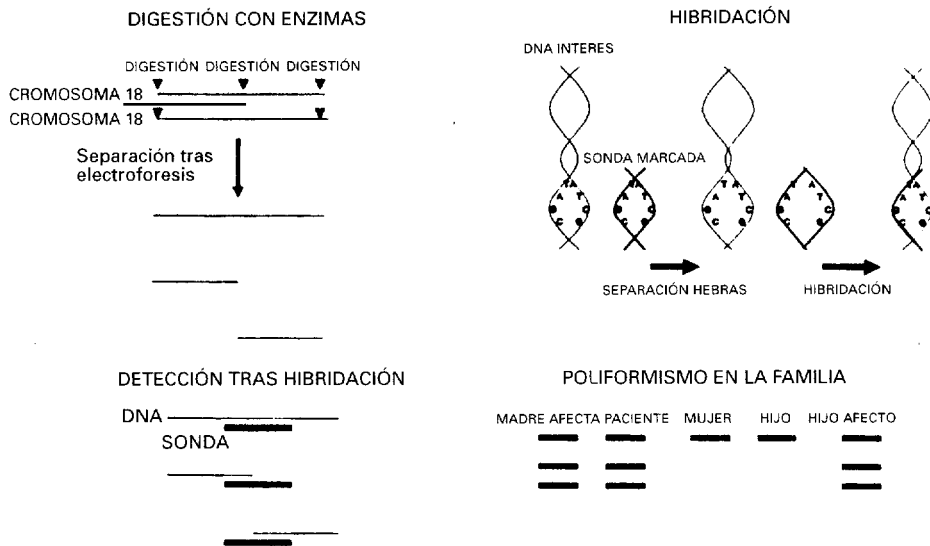


Fig. 1.

Una secuencia complementaria a la que estamos estudiando (sonda), de una única hebra, la marcamos con una base radioactiva. Al incubar la membrana de nylon con una solución en la que esté presente la sonda, ésta irá a unirse a aquellos fragmentos de ADN con una secuencia complementaria a la suya. De esta manera podemos detectar en la membrana la presencia de los distintos fragmentos de ADN de diferente longitud (Figura 1).

La mujer del paciente no tiene en ninguno de sus cromosomas 16 el lugar de reconocimiento para Eco RI y no está afectada de la enfermedad. Por el contrario, la madre del paciente, también afectada, sí porta el lugar de reconocimiento para Eco RI. Queremos investigar si los hijos del paciente desarrollarán la enfermedad. En la figura 1 están los resultados del estudio del DNA de todos los miembros de la familia.

Mediante el estudio del DNA, hemos podido diferenciar cada uno de los dos cromosomas 16 del paciente y comparándolo con el estudio de su progenitor afectado, hemos hallado cuál de ellos es el que porta el gen defectuoso de la enfermedad, pudiendo de esta manera determinar cuál, de los dos hijos del paciente desarrollará la enfermedad en el futuro (Figura 1).

Con un sistema similar al explicado (Southern blotting), podemos detectar diversos tipos de mutaciones, siempre que conozcamos la secuencia del gen a estudiar (Dot blott).

En ocasiones, es necesario disponer de una mayor cantidad de ADN de la zona que deseamos estudiar, bien para detectar polimorfismos, bien para detectar mutaciones (secuenciación). Esto se consigue gracias a la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que multiplica exponencialmente el segmento del material genético a estudiar.

En la enfermedad renal poliquística del adulto sabíamos, antes de comenzar el estudio, que el gen responsable de la enfermedad estaba localizado en el brazo corto del cromosoma 16.

¿Cuál es el proceso para llegar a localizar el gen responsable de esta enfermedad en uno de los 23 pares de cromosomas?

El estudio sobre el ligamiento de la hidronefrosis hereditaria al brazo corto del cromosoma 6 nos sirve de ejemplo para estudiarlo.

Tres varones de una, misma familia, de tres generaciones distintas, habían sido intervenidos quirúrgicamente debido a Hidronefrosis por obstrucción en la unión pielocalicial. La transmisión de varón a varón ya excluye que nos encontremos frente a una enfermedad hereditaria ligada al cromosoma X (Figura 2).

Sengar *et al.* (1), al estudiar una familia similar, con objeto de realizar un trasplante renal, había realizado estudios de histocompatibilidad en diversos miembros de esta familia, hallando que todos los afectados compartían el mismo haplotipo para los antígenos de la clase I del sistema HLA.

Este hallazgo le llevó a postular una asociación entre ciertos haplotipos del sistema HLA y el desarrollo, tanto del reflujo vesico-ureteral, como de la hidronefrosis hereditaria debido a obstrucción en la unión pielocalicial.

En la familia estudiada por Páramo *et al.*(2), se realizó el mismo estudio

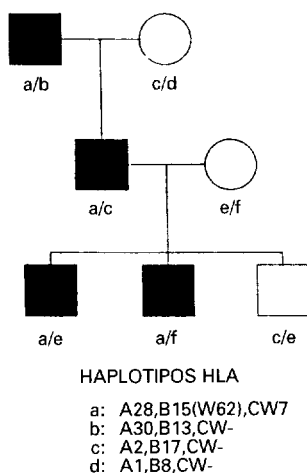


Fig. 2.—Hidronefrosis hereditaria.

de histocompatibilidad, con el resultado de que todos los afectados además de un presintomático, también compartían el mismo haplotipo HLA.

Haciendo una revisión de todos los casos publicados de familias con pacientes de esta enfermedad, a las que se les había realizado un estudio de histocompatibilidad, se corroboró que los pacientes heredaban conjuntamente del progenitor afecto su haplotipo HLA y la enfermedad.

Si bien, en todos los casos el haplotipo era el mismo dentro de cada familia, este haplotipo era distinto entre una familia y otra, por lo que no se podía relacionar la presencia de un haplotipo determinado HLA con el desarrollo de la enfermedad, pero si lo usábamos como un marcador genético del brazo corto del cromosoma 6, nos servía para poder diferenciar los dos cromosomas de este par de un individuo y ver cuál de los dos se transmitía a la siguiente generación junto con la enfermedad.

Enfrentamos mediante un análisis estadístico las posibilidades de que esta transmisión de un cromosoma 6, junto con la enfermedad fuese debida al azar, o bien fuese debido a que en la vecindad de los genes del sistema HLA se hallase un gen responsable del desarrollo de la enfermedad.

El resultado del análisis estadístico favoreció esta última hipótesis (3).

Más tarde, Fryns *et al.* (4), al realizar un estudio citogenético de un feto con obstrucción bilateral en la unión pielocalicial e hidronefrosis masiva, halló una traslocación no heredada entre el brazo corto del cromosoma 6 y el brazo largo del cromosoma 19, lo que apoyaba la hipótesis de un gen responsable de la obstrucción en la unión pielocalicial localizado en el brazo corto del cromosoma 6.

Por tanto, bien mediante estudios cromosómicos, o bien mediante estudio de marcadores genéticos como son los RFLP (fragmentos de restricción

de longitud polimórfica) o los microsatélites, podemos localizar los genes responsables de diversas enfermedades en los pares cromosómicos y luego utilizar este conocimiento para realizar diagnóstico presintomático o diagnóstico prenatal.

## 1.2. Citogenética molecular

De igual manera que es posible localizar una secuencia específica de DNA inmovilizado en una membrana de nylon, como se ha expuesto anteriormente, mediante su hibridación con una sonda complementaria marcada, también se puede localizar esa secuencia en una preparación microscópica de núcleos en metafase o en interfase. Para ello, debemos desnaturalizar el DNA presente en los cromosomas o en los núcleos en interfase e hibridarlos con una sonda marcada con biotina o digoxigenina (marcadores no radioactivos), y tras una reacción enzimática, observar su señal a través de un microscopio óptico con filtros adecuados.

Con esta técnica se pueden localizar secuencias de DNA en cromosomas, o bien usando cócteles de sondas «pintar» un cromosoma entero.

## 2. CITOGENÉTICA MOLECULAR EN UROLOGÍA

La citogenética molecular en urología, ha permitido desarrollar, o lo hará en el futuro próximo, métodos diagnósticos en los campos de la infertilidad y en el estudio de los tumores como expondremos en las siguientes páginas.

### 2.1. Citogenética molecular en el estudio de la infertilidad masculina

La aplicación de las técnicas moleculares al estudio citogenético, en casos de infertilidad masculina, ha permitido un mejor conocimiento del comportamiento de los cromosomas portadores de anomalías estructurales en la meiosis.

Como es sabido, aquellos varones con un número de espermios en eyaculado menor de 20 millones/ml, es el grupo en el que más frecuentemente se encuentran anomalías cromosómicas, y entre ellas, la más frecuente es el Síndrome de Klinefelter. Frecuentemente, en estos varones existe una parada en la maduración de la espermatogénesis, por lo que no tiene sentido en ellos el estudio de la meiosis. Sin embargo, en otras anomalías cromosómicas como son las estructurales (traslocaciones, inversiones, cromosomas en anillo), que también pueden dar lugar a azoospermia u oligospermia, el estudio de la meiosis en biopsia de testículo nos ayuda a evaluar con más exactitud el riesgo de tener descendientes malformados.

El reconocimiento de los cromosomas o fragmentos cromosómicos im-

plicados en estas anomalías estructurales en el estudio de la meiosis, ha sido facilitado por la hibridación «in situ», ya que nos permite «pintar» con sondas marcadas con biotina o digoxigenina los cromosomas que nos interesan.

En varones azoospermicos con testes de tamaño normal y cromosomas normales en el estudio de sangre periférica (cromosomas mitóticos), el estudio de la meiosis puede ayudar a establecer un diagnóstico diferencial de las causas de la infertilidad. Algunos pacientes tienen una parada de la maduración en el primer estadio del espermatocito, asociado con una disminución en el número de quiasmas en la primera metafase.

Esta condición de oligoquiasmas, que puede ser una enfermedad monogénica, con patrón de herencia autosómico recesivo, no tiene ningún tratamiento. Generalmente, si la reducción en el número de quiasmas es muy llamativa, los pacientes suelen presentar una oligospermia severa o azoospermia.

## 2.2. Citogenética molecular en el estudio del tumor de Wilms

La predisposición genética a la formación de tumores se ha mostrado claramente en dos formas de cáncer: el retinoblastoma y el tumor de WILMS.

Ambas neoplasias ocurren de manera hereditaria y esporádica, o no hereditaria, y están asociadas con la pérdida de una región cromosómica, o secuencias de DNA submicroscópicas. La forma hereditaria del tumor de Wilms (1% de los casos) es generalmente bilateral.

El segmento cromosómico delecionado que caracteriza este cáncer está localizado en el brazo corto del cromosoma 11 (11p13 y 11p15) y el mecanismo de tumorigénesis es aparentemente igual que en el retinoblastoma, es decir, que una mutación y/o una pérdida de función de genes normales (genes supresores de tumores) localizados en esta región del cromosoma 11 debe ocurrir anterior al desarrollo del tumor. Se ha comprobado que más del 50% de los casos de tumor de WILMS muestran una pérdida de heterocigosidad para marcadores de 11p. (4).

En más del 90% de los casos el alelo perdido es el materno, fenómeno similar al ya visto en otras microdeleciones, como en la que afecta al cromosoma 15 en sus brazos largos (15q11-12). En estos casos, si el cromosoma portador de la microdelección es heredado del padre, el paciente desarrolla el Síndrome de Prader-Willi, mientras que, si el cromosoma portador de la anomalía proviene de la madre, el paciente estará afecto del Síndrome de Angelman. Clínicamente estos dos síndromes no tienen nada en común.

Esta diferencia en el fenotipo de una misma anomalía cromosómica o defecto genético, dependiendo si el mismo es heredado del padre o de la madre, se denomina «Imprinting» y, cuando se conozca mejor su mecanismo, jugará un papel esencial en la comprensión de los mecanismos de regulación de los genes.

Cerca del 2% de los pacientes con una deleción constitucional del cro-

mosoma 11p13, suelen presentar también aniridia y adicionalmente pueden manifestar malformaciones del tracto urinario y retraso del crecimiento y mental (Síndrome WAGR).

En estos casos de microdeleciones, la contribución de la citogenética molecular ha permitido la identificación de dos regiones cromosómicas próximas implicadas en el desarrollo del tumor de Wilms, una la ya mencionada 11p13 y otro locus diferente en 11p15, que suele estar implicado en los casos de tumor de Wilms esporádicos.

También se utiliza como método diagnóstico la citogenética molecular en los casos de Síndrome de Beckwith-Wiedemann, ya que en alguno de ellos se ha encontrado una duplicación de 11p15. Los pacientes afectados de este Síndrome presentan un riesgo elevado de padecer tumor de Wilms (5).

Sorprendentemente, en los casos de tumores de WILMS hereditarios (1% de los casos), no se ha encontrado ligamiento con ninguna de las regiones implicadas del brazo corto del cromosoma 11 en los casos esporádicos, lo que ha motivado la búsqueda de otros locus, existiendo varios candidatos.

Es curioso comprobar como entre otro cáncer urológico y otra enfermedad hereditaria ocurre la misma relación. Como nos referiremos en su momento, uno de los primeros tumores que se asociaron a anomalías cromosómicas fue el cáncer renal, ya que se describió la presencia de una traslocación que involucraba al brazo corto del cromosoma 3 y este tumor. Posteriormente, se ha comprobado la presencia de anomalías cromosómicas no aleatorias en esta región, 3p21 en cultivos procedentes de cáncer renal.

Asimismo, la enfermedad de Von Hippel Lindau, también asociada a cáncer renal, ha sido localizado, al menos, uno de sus locus en una región muy próxima cromosómicamente 3p25, pero no tanto a nivel molecular.

### **2.3. Aplicaciones de la citogenética molecular en el estudio de otros tumores urológicos**

#### *2.3.1. Carcinoma de células transicionales de vejiga (TCC)*

Una de las primeras publicaciones que demostró la importancia clínica de los resultados del estudio citogenético en tumores comunes fue el de Falor (6), en sus trabajos sobre el cáncer de vejiga. A pesar de que no se habían resuelto los problemas técnicos de la citogenética tumoral, y por tanto, sus estudios fueron sobre metafases incompletas y con muy mala calidad de bandedo, pudo demostrar que muchos tumores de vejiga presentaban cariotipos que contenían marcadores cromosómicos inidentificables estructuralmente anormales (Umar's). El seguimiento clínico a largo plazo de los pacientes que tenían estos marcadores en sus tumores, demostró que tenían un mayor grado de recurrencia que el grupo de pacientes que tenían un cariotipo normal en sus tumores (al menos, en términos de anomalías estructurales detectables).



Desde estos primeros trabajos de Falor, otros estudios, tras la aplicación de la técnica de bandas en metafases tumorales, han mostrado que ciertos cromosomas están más frecuentemente alterados en este tumor.

Por ejemplo, de las aberraciones cromosómicas reseñadas en la Tabla 1 se desprenden algunos puntos interesantes. La inestabilidad de las regiones centroméricas de algunos cromosomas es bastante común y generalmente afectan a los cromosomas 5 y 11, aunque muchos otros cromosomas pueden mostrar la formación de isocromosomas. Los isocromosomas 5p, 11p y las translocaciones en la región pericentromérica 11p11-q11 son comunes, e incluso las deleciones y translocaciones en la banda 1q21 bordean una gran área de heterocromatina en la región pericéntrica del cromosoma 1 (7).

TABLA 1

**Anomalías cromosómicas no aleatorias en tumores malignos urológicos**

Vejiga	Deleciones y translocaciones en la banda 1q21; isocromosoma de brazos cortos del par 5 i(5p); trisomía 7; monosomía 9; deleciones y translocaciones de 11p11-q11; deleciones, translocaciones y duplicaciones de 13q14, cromosomas marcadores no identificables.
Renal	Translocaciones y deleciones que afectan a los brazos cortos del cromosoma 3 t(3;8)(p14;q24); t(3;11) (p13-p14;p15) deleciones de 3p14-p21.
Wilms	Isocromosoma brazos largos del par 1; translocaciones en las bandas 1p11-q11; deleciones de 11p13.
Testículo	Isocromosoma de los brazos cortos del par 12 i(12p).
Próstata	Deleciones del brazo largo del cromosoma 10 del(10)(q24).

Las translocaciones y deleciones de la región pericentromérica del cromosoma 1 que hemos citado antes, se encuentran también en otros tumores, y tanto en ellos, como en el adenocarcinoma de vejiga, parecen importantes en la adquisición por parte del tumor de un comportamiento más agresivo, así como un mayor potencial de crecimiento de las metástasis.

También han sido descritas en este tumor translocaciones y duplicaciones en la banda 14 del brazo largo del cromosoma 13(13q14), siendo esta banda la misma que suele estar delecionada en el retinoblastoma, lo que indica que al igual que en este tumor, está implicado un gen supresor de tumores, que debido a las anomalías cromosómicas se ha perdido el gen o al menos la función.

Actualmente, no se conoce un único primer cambio común a todos los TCC, pero comunicaciones recientes indican que el isocromosoma de los brazos cortos del cromosoma 5 [i(5p)] puede, al menos, ser un importante

cambio que podría definir un subgrupo de pacientes que compartirían una misma evolución clínica (8).

Las otras anomalías no aleatorias encontradas en el TCC como son las monosomías, probablemente identifiquen subtipos tumorales en cuanto a su comportamiento. Por ejemplo, tumores con trisomía 7 parecen tener un comportamiento más agresivo que, por ejemplo, los que presentan monosomía 9 o monosomía parcial para los brazos largos del cromosoma 9 (9q-)

Adicionalmente, es quizás, más que una simple coincidencia, que un cambio no aleatorio encontrado en el TCC es la monosomía 9, cromosoma que también tiene una región pericentromérica grande compuesta de heterocromatina como el cromosoma 1 citado anteriormente.

Los genes localizados en el cromosoma 9 pueden jugar un papel muy importante en la oncogénesis del cáncer de vejiga. Parece evidente que estas deleciones o monosomías del cromosoma 9, en casos de TCCs no invasivo, se conserva durante el proceso de progresión del tumor y tetraploidización.

Las técnicas de hibridación «in situ» en núcleos en interfase han ayudado a la mejor detección de ésta anomalías cromosómicas, ya que no es necesario estudiar metafases y pueden ser utilizadas rutinariamente para investigar la presencia de aberraciones cromosómicas numéricas en los TCC, detectando con mayor precisión y sensibilidad las pérdidas del cromosoma 9 como un marcador temprano en neoplasias de vejiga.

Mediante estas técnicas se ha observado que el primer cambio para que se produzca la tetraploidización en las células tumorales (y por tanto, la progresión del tumor) es la pérdida del cromosoma 9 y la existencia de copias extra de otros cromosomas, como por ejemplo del par 1 (9).

Tyrkus *et al.* en 17 casos estudiados de cáncer «in situ», han encontrado una correlación positiva entre complejidad del cariotipo (alteraciones numéricas y estructurales) y el curso de la enfermedad. Así, aquellos cánceres superficiales con un cariotipo normal mostraban un curso no agresivo, y por el contrario, los que tenían cariotipos anormales, implicando sobre todo a los cromosomas 1,5,8 y 11, seguían un comportamiento agresivo (10).

### 2.3.2. Carcinoma renal

Como muestra la Tabla 1 en el carcinoma renal, sobre todo en el de células claras, se han descrito aberraciones cromosómicas no aleatorias, afectando la mayoría de ellas al brazo corto del cromosoma 3.

Estas alteraciones, traslocaciones y deleciones, se concentran en la banda p14. No sólo en este tipo de tumores se encuentran aberraciones cromosómicas que involucran esta región del cromosoma 3, sino que también se ha encontrado en el mesotelioma, el cáncer de pulmón de células pequeñas y en un grupo de tumores benignos de las glándulas salivares (3p21).

Aunque las bandas exactas involucradas en estas anomalías cromosómicas, así como la naturaleza de las mismas varía entre los diferentes tumores ci-

tados, la concentración de todas ellas en una cromosómicamente pequeña región del genoma es de gran interés.

Es bastante posible que todos estos tipos tumorales tengan en común que la pérdida de genes, o al menos de su función, localizados en ésta región del cromosoma 3, y posiblemente por las características de las anomalías cromosómicas, sean genes supresores de tumores (11).

En el caso del carcinoma renal existe otro dato que apoyaría esta hipótesis, el hecho de que en dos familias con cáncer renal hereditario se encontró una translocación que afectaba al brazo corto del cromosoma 3 (3p21), lo que es muy similar a la hipótesis utilizada para explicar los casos heredados y esporádicos del tumor de Wilms.

Así mismo, mediante Fragmentos de restricción polimórficos, Zbar *et al.* (12) demostraron pérdida de alelos en loci situados en 3p en el 100% de los tumores estudiados, lo que es superior al 42% de pérdidas de alelos en 11p en el carcinoma de vejiga y al 55% de pérdidas en el tumor de Wilms.

El estudio de las anomalías cromosómicas en el cáncer renal puede ayudar también a establecer una nueva clasificación histológica de estos tumores, ya que Van den Berg *et al.* han encontrado una relación entre las anomalías cromosómicas encontradas en el cáncer renal y una clasificación basada en tipos celulares de este tumor propuesta por Thoenes y Stoerkel.

### 2.3.3. Tumores de células germinales de testículo

Las deleciones del cromosoma 12 se consideran específicas de este tipo de tumores, ya que en más del 90% de los casos estudiados se ha encontrado la anomalía altamente específica del isocromosoma para los brazos cortos del par 12 [i(12p)] (13).

También se han encontrado otras aberraciones cromosómicas no aleatorias, generalmente deleciones. Recientemente, Murty *et al.* (14) han comprobado una pérdida de alelos frecuente (40%) para dos zonas de los brazos largos del cromosoma 12 : 12q13 y 12q22., lo que apoya las anomalías cromosómicas en el brazo largo del cromosoma 12 como claves en el desarrollo de este tumor.

Es más, uno de los tumores estudiados mostraba una deleción de 12q22 en las dos copias del cromosoma 12, que incluía el gen MGF, al cual se le presupone un papel importante en el desarrollo embrionario y postnatal de las células germinales.

Existen ciertas características en este tumor que hacen especialmente interesante encontrar un marcador que permita su detección precoz. Es el tumor más frecuente en varones entre 15 y 34 años, a pesar de las mejoras en su tratamiento, todavía pone en peligro la vida de los pacientes y, además, los efectos secundarios de su tratamiento suponen un verdadero handicap psicológico y una incierta calidad de vida futura en los jóvenes pacientes que lo sufren.

Esto, unido a su fácil tratamiento en su estadio preinvasivo de Carcinoma «in situ» (CIS), mediante orquiectomía o radiación local sin quimioterapia adyuvante, hacen que se concentren los esfuerzos en diagnosticar precozmente este tumor. Sin embargo el CIS es asintomático, pero tiene la ventaja que se pueden encontrar sus células en el líquido seminal.

Por tanto, una técnica que pudiese localizarlas fácilmente, sería de gran utilidad para poder establecer un programa de screening para la detección precoz.

Se ha comprobado que las células del CIS suelen tener una hiperdiploidía y que ésta anormal constitución cromosómica puede ser detectada mediante citometría de flujo, así como también, pueden detectarse las células del CIS en líquido seminal mediante métodos inmunocitoquímicos con el anticuerpo monoclonal M2A.

Desgraciadamente, la sensibilidad y especificidad de estos métodos, dista mucho actualmente de poder utilizarlos en un programa de screening.

Las modernas técnicas de genética molecular aplicadas a la citogenética, la hibridación «in situ» no radiactiva, permiten detectar anomalías cromosómicas numéricas en núcleos celulares en interfase. Giwerzman *et al.*, (1990) (15) (Figura 3) han aplicado con éxito esta técnica para detectar precozmente el CIS. Utilizando una sonda específica para la región pericéntrica del cro-

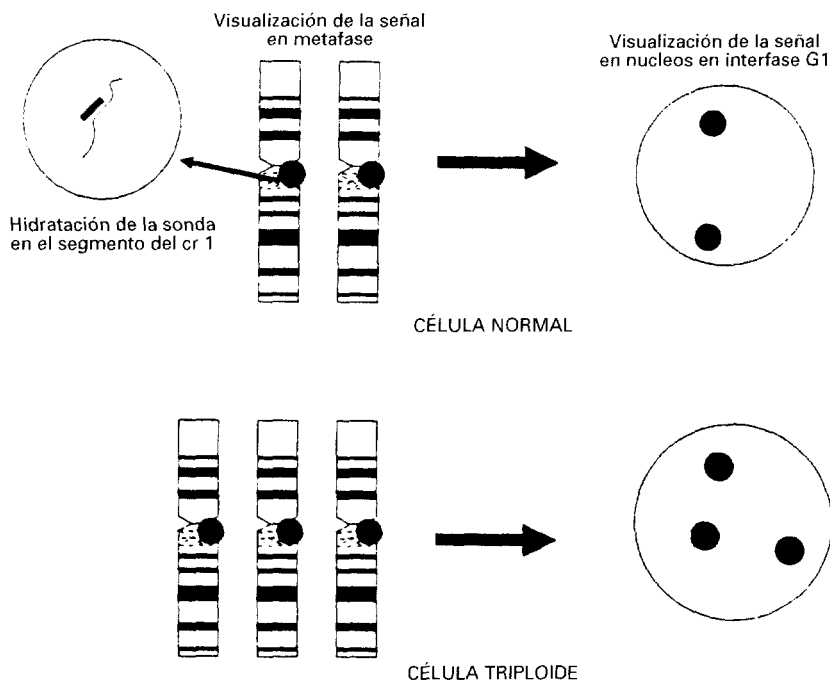


Fig. 3.

mosoma 1, han demostrado un significativo incremento en el número de células aneuploides en eyaculados de pacientes con CIS de testis comparados con controles, siendo este método más sensible que la citometría de flujo y los métodos inmunocitoquímicos.

Si se confirman con más amplios estudios estos resultados y se refina la técnica, se podría convertir en un muy eficaz método de screening de este tipo de tumores.

#### 2.3.4. *Adenocarcinoma de próstata*

A pesar de ser el tumor urológico más frecuente, es en el que menos se conocen anomalías cromosómicas características. Muchas de las aberraciones cromosómicas descritas no concuerdan de unos estudios a otros y, tan sólo, parece que es una anomalía común en alguno de ellos la delección del brazo largo del cromosoma 10 en la banda q24. Por tanto, nos encontramos aún más lejos en este tumor, que cuando estas hipotéticas aberraciones cromosómicas sean detectadas, sean de utilidad y aumenten el grado de detección precoz (16).

Esta inexplicada baja frecuencia de anomalías cromosómicas en estos tumores, apunta que lesiones más sutiles a nivel del DNA o del RNA son características de este adenocarcinoma.

El estudio del pequeño porcentaje de casos de adenocarcinoma de próstata, en el que se ha demostrado una transmisión hereditaria siguiendo un patrón autosómico dominante, quizá dé la clave de estas lesiones a nivel molecular.

### 3. PERSPECTIVAS DE FUTURO DE LA CITOGENÉTICA MOLECULAR

Como se desprende de lo publicado en este capítulo, la principal aplicación de estas técnicas en Urología, vendrá del campo oncológico.

El gran desarrollo alcanzado por la genética molecular en los últimos años, parecería indicar que la futura investigación de marcadores genéticos en el cáncer, irá casi exclusivamente por ese camino.

Sin embargo, la citogenética, y aún más, con la aplicación a ella de las técnicas moleculares como la hibridación «in situ», seguirá jugando un papel destacado por varias razones, como destaca Heim (1992) (14), entre ellas, que mientras los estudios de genética molecular se centran específicamente en los cambios genéticos a nivel molecular de una forma altamente específica, los estudios citogenéticos permiten observar las alteraciones de todos los cromosomas en su conjunto, y además, de cada célula en particular, y no una constitución genotípica de todo el tumor en su conjunto, y, por lo tanto, no observar la heterogeneidad y evolución clonal de la neoplasia.

Además, las dificultades encontradas por los estudios moleculares en casos de excesos o defectos de dosis génica, como en las trisomías o monosomías, son más fácilmente resueltos por la citogenética. Incluso es posible, que las consecuencias patológicas de algunas translocaciones balanceadas y pérdidas de segmentos cromosómicos, puedan ser más complejas que las de activar oncogenes o pérdida de genes supresores de tumores.

## BIBLIOGRAFIA

1. Sengar *et al.*: «Familial urinary tract anomalies». *J. Urol*, 1978; 121:194-197
2. Páramo, P. G.; Izquierdo, L. *et al.*: «Genuine Hereditary hydronephrosis in a three generation family». *Eur. Urol.*, 1991; 20:293-300
3. Izquierdo, L.; Porteous, M.; Páramo, P. G.; Connor, J. M.: «Evidence for genetic heterogeneity in Hereditary hydronephrosis caused by pelvi-ureteric junction obstructio, with one locus assigned to chromosome 6p». *Hum. Genet.*, 1992; 89:557-560
4. Fryns, J. P.; Kleczkowska; Moerman, P.; Vandenberghe: «Hereditary hydronephrosis and the short arm of chromosome 6». *Hum. Genet.*, 1993; 91:514-518
4. Connor, J. M.; Ferguson-Smith, M. A.: «Essential of medical genetics». *Blackwell*, 1993.
5. Wolff, J. M.; Habib, F. K.: «Tumor supressor genes in urologic tumors». *Urology*, 1993; 42 (4):461-466.
6. Falor, W. H.: «Chromosomes in noninvasive papillary carcinoma of the bladder». *J. Am. Med. Asoc.*, 1971; 216:791-794.
7. Atkin, N. B., and Baker, M. C.: «Cytogenetic study of ten carcinomas of the bladder: involvement of chromosomes 1 and 11». *Cancer genet. Cytogenet*, 1985; 15:253-268.
8. Gibas, Z.; Griffin, C. A.; Emanuel, B. S.: «Trisomy 7 and i(5p) in transitional cell carcinoma of the bladder». *Cancer Genet Cytogenet.*, 1987; 25:369-370
9. Hopman, A. H. N.; Moesker, O.; Wim, A. *et al.*: «Numerical chromosome 1,7,9, and 11 aberrations in bladder cancer detected by in situ hybridization». *Cancer Res.*, 1991; 51:644-651.
10. Tyrkus, M.; Powell, I.; Fakr, W.: «Cytogenetic studies of cancer in situ of the bladder: prognostic implications». *J. Urol.*, 1992; 148/1:44-46.
11. Kovacs, G.; Szucs, S.; De Resisse, W. *et al.*: «Specific chromosome aberration in human renal cell carcinoma». *Int. J. Cancer*, 1987; 40:171-178.
12. Zbar, B.; Brauch, H.; Talmadge, C.; Linehan, M.: «Loss of alleles of loci on the short arm of chromosome 3 in renal carcinoma». *Nature*, 1987; 327:721-724.
13. Murty, V.; Chaganti, R.: «Allelotyping of male germ cells tumors». *Am. J. Hum. Genet.*, 1991; 49/suppl 4:122.

14. Murty, V.; Houldsworth, J.; Baldwin, S. *et al.*: «Allelic deletions in the long arm of chromosome 12 identify sites of candidate tumor suppressor genes in male germ cell tumors». *Proc. Natl. Acad. Sci. Usa*, 1992; 89/22:11006-11010.
15. Giwerzman, A.; Hopman, A. H. N.; Ramaekers, F. C. S. and Skakkebak, N. E.: «Carcinoma in situ of the testis. Detection of malignant germ cells in seminal fluid by means of in situ hybridization». *Am. J. Path.*, 1990; vol. 136 N°3:497-502.
16. Heim, S.: «Is cancer cytogenetics reducible to the molecular genetics of cancer cells?». *Genes Chrom Cancer*, 1992; 5/3:188-196.