

Técnicas de Citogenética (TEAP)

XXV Congreso de la SEAP-IAP, XX Congreso de la
SEC y I Congreso de la SEPAF

Zaragoza, 18-21 Mayo, 2011

Gloria Peiró
HGU Alicante

SEAP-IAP



SEPAF



"Nueva era del Dx Molecular"

- ✓ Avances recientes
 - ✓ Genómica
 - ✓ Proteómica
 - ✓ Bioinformática

Dx Molecular

- ✓ Uso de técnicas moleculares para la detección de alteraciones en
 - ✓ ADN (mutación, deleción, amplificación, translocación, etc)
 - ✓ mRNA
 - ✓ Proteínas (expresión)
- ✓ Ayudan en el diagnóstico, subclasificación, predicción del pronóstico, selección de tratamiento y monitorización o respuesta a tratamiento

¿Se necesitan estudios moleculares?

- ✓ MO/ME, IHQ no identifican de manera específica todas las alteraciones patológicas (p.e. tumores, infecc, etc)
- ✓ Tumores morfológicamente idénticos pero de comportamiento diferente
- ✓ Algunos cambios moleculares predicen la respuesta a diferentes modalidades de tratamiento

✓ Disponibilidad + Buen uso =

Incentivo para la investigación de transferencia

✓ Esfuerzo común y continuo intercambio de información y resultados entre laboratorio y la clínica

Técnicas de Citogenética

Técnicas de *hibridación in situ*

- ✓ fluorescencia (FISH)
- ✓ cromogénica con digoxigenina (CISH)
- ✓ plata (SISH)
- ✓ SKY (Spectral Karyotyping)
- ✓ M-FISH (multicolor-FISH)
- ✓ CGH (Comparative Genomic Hybridization)

- ✓ Cariotipo

Hibridación *in situ*: Historia

✓ Gall y Pardue (1969)



Xenopus laevis (rana africana de uñas)

- Hibridación de RNA y DNA en ovocitos
- Marcaje de sondas RNA con radioisótopos (Tritio)
- Detección por autorradiografía
 - En tj conectivo, poco sensible (exposición >2m)
- Modificaciones: desnaturalización, RNA sintetizado *in vitro*

Hibridación *in situ*: Historia

- ✓ Taylor y Burns (1974): Ig en céls plasmáticas
- ✓ Harper et al (1981): gen de la Insulina en cromosomas metafásicos
- ✓ Coghlan et al (1985-6): detecta bajo nº de copias de mRNAs
- ✓ Haase et al
 - ✓ 1990's desarrollo de IS-RT-PCR, aplicación en Dx histológico
 - ✓ 1998: desarrollo de métodos de HIS que detectan bajo n copias Ac Nucl

Problemas HIS pre-90's

- ✓ Sondas marcadas con isótopos radioactivos (Tritio, ^{32}P , ^{35}S , ^{125}I , ^3H , ^{33}P)
- ✓ Riesgo de uso de material radioactivo
- ✓ Detección con placa de Rx o autorradiografía
- ✓ Tiempo requerido para la detección

Marcadores actuales

- ✓ Antigénicos
 - ✓ Biotina, Digoxigenina, fostatasa alcalina
- ✓ Fluorescentes
 - ✓ Floresceína, Rodamina, Texas Red

HIS: Aplicaciones

- ✓ Dx alteraciones genéticas en neoplasias
 - ✓ Terapéutica: Amplificación/delección (*HER2*, *TOP2A*, 1p/19q)
 - ✓ Hematológicas: Translocaciones
- ✓ Detección de virus
 - ✓ HPV, EBV, CMV
- ✓ Citogenética

- ✓ **Dra Marta Salido (H del Mar, Barcelona)**
 - ✓ Cariotipo. Aplicaciones al diagnóstico hematológico y de tumores sólidos
 - ✓ Técnicas de multicolor-ISH: SKY, M-FISH

- ✓ **Sra M Dolores Durán (HGU Alicante)**
 - ✓ La técnica de FISH

- ✓ **Dra Beatriz Fernández-Rodríguez (CHU Santiago de Compostela)**
 - ✓ La técnica de CISH