



Universidad Nacional Autónoma de México

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
CAMPUS IZTACALA

“ESTUDIO CITOGENETICO PRELIMINAR EN EL DIAGNOSTICO DE LEUCEMIAS AGUDAS”

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G O
P R E S E N T A N
MONICA DIAZ GARCIA
MA. TERESA BAUTISTA TIRADO

ASESOR: M. EN C. MARTHA SALCEDO

LOS REYES IZTACALA, EDO. DE MEX.

1994

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Biología Celular de la Escuela Nacional de Estudios Profesionales Campus Iztacala, bajo la dirección de la M en C. Martha Salcedo.

A mis padres, Ernestina y Juvencio.
Por su amor, su apoyo y la confianza
depositada en mí para que lograra mi
formación profesional

A mis hermanos.
Por su cariño y ayuda.

A mis sobrinos.
Para que esto les motive a
seguir adelante es sus estudios.

A Ma. Teresa Bautista y
Bernarda Alba Rosas.
Por su amistad y lo vivido
durante nuestra formación
profesional.

A la M en C. Martha Salcedo.
Por su apoyo y la confianza
depositada en nosotras para
la realización de esta tesis.

A mis padres.
Zenón Bautista y Ma. de la Luz Tirado.
Con amor y gratitud, quienes se
preocuparon por mi formación,
dandome fuerza y valor para
que llegara a mi meta.

A mi madre.
Con cariño y admiración, por
su paciencia y sacrificios que
realizó por mí, así como por su
gran apoyo para que lograra mi
formación profesional.

A mis hermanos.
Por su comprensión y cariño.

A mis primos.
Francisco y Catalina.
Por su ayuda, amistad y compañía.

A la M. en C. Martha Salcedo.
Por su gran apoyo brindado
durante la realización de
ésta tesis.

Agradecemos al Hospital de Especialidades del IMSS La Raza, al Hospital de Especialidades del IMSS Siglo XXI, al Instituto Nacional de Pediatría SSA., al Hospital General de México SSA. y al Hospital 20 de Noviembre del ISSSTE. Por la información y el tiempo otorgado para la realización de ésta tesis.

Agradecemos a nuestros revisores de tesis por el tiempo empleado.

Agradecemos a los profesores que de alguna manera contribuyeron en nuestra formación profesional.

INDICE

CAPITULO I.

INTRODUCCION.....	1
-------------------	---

CAPITULO II.

ANTECEDENTES

1.	HISTORIA.....	3
2.	CLASIFICACION DE LEUCEMIAS.....	5
2.1.	CLASIFICACION DEL FAB.....	5
2.1.1.	CLASIFICACION DEL FAB EN LLA.....	6
2.1.2.	CLASIFICACION DEL FAB EN LMA.....	8
2.2.	PRUEBAS CITOQUIMICAS.....	10
2.3.	CLASIFICACION INMUNOLOGICA.....	12
2.3.1.	CLASIFICACION INMUNOLOGICA DE LLA.....	15
2.3.2.	CLASIFICACION INMUNOLOGICA DE LMA.....	15
2.4.	CLASIFICACION MORFOLOGICA, INMUNOLOGICA Y CITOGENETICA.(MIC).....	19
2.4.1.	CLASIFICACION DEL MIC EN LLA.....	19
2.4.2.	CLASIFICACION DEL MIC EN LMA.....	21
3.	ETIOLOGIA DE LAS LEUCEMIAS.....	23
3.1.	FACTORES FISICOS.....	23
3.2.	FACTORES QUIMICOS.....	26
3.2.1.	FARMACOS ANTINEOPLASICOS.....	27
3.3.	FACTORES BIOLOGICOS.....	29
3.3.1.	VIRUS.....	29
3.4.	FACTORES GENETICOS.....	33
3.4.1.	ORIGEN MONOCLONAL.....	34
3.4.2.	FACTORES HEREDITARIOS.....	35
3.4.3.	ANEUPLOIDIAS.....	36
3.4.4.	ONCOGENES.....	37
3.4.5.	MECANISMO DE ACTIVACION DE PROTO-ONCOGENES.....	38
3.5.	SITIOS FRAGILES.....	41
3.5.1.	SITIOS FRAGILES RAROS.....	42
3.5.2.	SITIOS FRAGILES COMUNES O CONSTITUTIVOS.....	42

3.5.3.	SITIOS FRAGILES Y REARREGLOS CROMOSOMICOS EN LEUCEMIAS AGUDAS...	44
4.	REARREGLOS CROMOSOMICOS DE LEUCEMIAS AGUDAS.....	45
4.1.	METODOLOGIA CITOGENETICA.....	45
4.2.	NOMENCLATURA.....	49
4.3.	ALTERACIONES CROMOSOMICAS EN LMA.....	51
4.3.1.	ALTERACIONES NUMERICAS.....	52
4.3.2.	ALTERACIONES ESTRUCTURALES.....	54
4.3.3.	REARREGLOS CROMOSOMICOS PREDOMINANTES EN LMA.....	56
4.3.3.1.	t(8;21) EN M2.....	56
4.3.3.2.	t(15;17) EN M3.....	57
4.3.3.3.	REARREGLOS ESTRUCTURALES EN EL CROMOSOMA 16 EN M4.....	59
4.3.3.4.	t(6;9) Y BASOFILIA EN MEDULA OSEA.....	61
4.3.3.5.	REARREGLOS EN 3q Y TROMBOCITOPOYESIS ANORMAL.....	62
4.3.3.6.	LEUCEMIA MONOBLASTICA AGUDA CON REARREGLOS EN 11q.....	63
4.3.3.7.	OTROS REARREGLOS ESTRUCTURALES PRIMARIOS EN LMA.....	64
4.3.3.8.	LMA COMO ENFERMEDAD SECUNDARIA.....	65
4.4.	REARREGLOS CROMOSOMICOS EN LMA.....	66
4.4.1.	ALTERACIONES NUMERICAS.....	66
4.4.2.	ALTERACIONES ESTRUCTURALES.....	68
4.4.3.	REARREGLOS CROMOSOMICOS PREDOMINANTES EN LLA.....	69
4.4.3.1.	t(1;19)(q22;p23).....	69
4.4.3.2.	t(4;11)(q22;q23).....	71
4.4.3.3.	t(9;22)(q34;q11).....	72
4.4.3.4.	t(8;14)(q24;q32); t(8;22)(q24;q11) y t(2;8)(p12;q24).....	75
4.4.3.5.	del(6).....	77
4.4.3.6.	t(9;V)(p21;V)/del(9)(p21).....	77
4.4.3.7.	t(12;V)(p12;V).....	78
4.4.3.8.	t(7;V)/del(7q).....	79
4.4.3.9.	t(8;14)(q24;q11); t(10;14)(q24;q11) y t(11;14)(p13;q11).....	79

CAPITULO III.

MATERIAL Y METODOS.....	81
--------------------------------	-----------

<i>CAPITULO IV.</i>	
RESULTADOS.....	82
<i>CAPITULO V.</i>	
DISCUSION.....	105
<i>CAPITULO VI.</i>	
CONCLUSIONES.	110
APENDICE.....	112
GLOSARIO.....	117
<i>CAPITULO VII.</i>	
REFERENCIAS.....	125

ABREVIATURAS

ADN.	Acido Desoxirribonucleico.
ARN.	Acido Ribonucleico.
CALLA.	Antigeno Común en LLA.
FAB.	Franco-Americna-Britanica.
FISH.	Hibridación <i>in Situ</i> Fuorescente.
G-6-PD.	Enzima Glucosa 6 Fosfato Deshidrogenasa.
HTLV.	Virus de Leucemia/Linfoma de Células T-Humanas.
L1.	Leucemia Prolinfocítica Aguda.
L2.	Leucemia Prolinfoblástica Aguda.
L3.	Leucemia de Burkitt Aguda.
LLA.	Leucemia Linfoblástica Aguda.
LMA.	Leucemia Mieloblástica Aguda.
M1.	Leucemia Mieloblástica Aguda Inmadura.
M2.	Leucemia Mieloblástica Aguda Madura.
M3.	Leucemia Promielocítica Aguda.
M4.	Leucemia Mielomonocítica Aguda.
M5.	Leucemia Monocítica Aguda.
M6.	Leucemia Eritrocítica Aguda.
M7.	Leucemia Megacarioblástica Aguda.
MIC.	Clasificación Morfológica, Inmunológica y Citogenética.
Ph'	Cromosoma Filadelfia.
PHA.	Fitohemaglutinina.
RTC.	Receptor de Células T.
SF.	Sitios Frágiles.
SFC.	Sitios Frágiles Comunes o Constitutivos.
SFR.	Sitios Frágiles Raros.
SIDA.	Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida
SIDA.	Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida
SmIg.	Inmunoglobulinas en la superficie de membrana.
Sx.	Síndrome.

CAPITULO I.

INTRODUCCION.

La leucemia es una proliferación de células hematopoyéticas anormales que se caracterizan por su mala respuesta a los mecanismos de regulación normal, así como su capacidad de suprimir o deteriorar el crecimiento de células normales, por lo tanto se requiere del conocimiento de los principios citogenéticos y moleculares que rigen la división celular para determinar los procesos leucemogénicos.

En la última década ha habido notables avances en el estudio de los aspectos genéticos de las células neoplásicas que permitieron establecer cuales son las anormalidades cromosómicas y cambios celulares que causan la transición de proliferación normal a maligna. Actualmente se ha establecido que los genotipos complejos observados en las leucemias son el resultado de una multitud de cambios genéticos que se originan por la acción de diversos agentes físicos, químicos y/o biológicos en el genoma, observándose la aparición de alteraciones cromosómicas, lo que ha dado la pauta para aplicar técnicas citogenéticas y moleculares en el estudio del cáncer. Con el uso de métodos citogenéticos se observó la primera anormalidad cromosómica consistente en cáncer humano: el cromosoma Filadelfia (Ph') en pacientes con Leucemia Granulocítica Crónica.

Posteriormente con el advenimiento y la aplicación sistemática de técnicas de bandedo, se han descrito alteraciones cromosómicas en la mayoría de las neoplasias humanas; el uso de técnicas de alta resolución, ha permitido una definición más precisa de los rearrreglos cromosómicos observándose anormalidades cromosómicas en aproximadamente 95% de los pacientes con leucemia aguda.

La aplicación de estos métodos en el estudio de las leucemias agudas ha sido de gran importancia, pues se ha demostrado que la mayoría presentan rearrreglos cromosómicos específicos tales como las t(8;14), t(1;19), t(4;11) y t(9;22) en LLA y las t(15;17), t(8;21) e inv(16) en LMA principalmente.

El hallazgo de estas alteraciones cromosómicas en el estudio citogenético tiene valor diagnóstico-pronóstico, independientemente de su gran importancia para dilucidar la patogénesis de este grupo de neoplasias.

Evidentemente un diagnóstico más exacto ayudará a seleccionar desde el inicio, el esquema del tratamiento adecuado y eventualmente un mejor pronóstico para el paciente, lo que indudablemente ayudará a disminuir los índices de morbi-mortalidad.

El intentar establecer una caracterización real de las leucemias agudas en la población mexicana es un problema constante, por lo que en este trabajo se realizó en el área metropolitana un estudio preliminar de los hallazgos citogenéticos más frecuentes en las leucemias agudas, así como su utilidad en la relación diagnóstico-pronóstico y evolución de la enfermedad. Se presentan los resultados obtenidos de las encuestas realizadas en el Sector Salud, de los cuales 128 corresponden a pacientes con LLA y 72 con LMA.

El propósito de esta tesis es contribuir al establecimiento de una mejor caracterización de las leucemias agudas en nuestro país, ya que forman parte de un problema de morbi-mortalidad, de origen multifactorial cuya incidencia deberá ser valorada multidisciplinariamente con el fin de detectar, si esta aumenta o disminuye en la población en estudio y las posibles causas de dichos acontecimientos.

CAPITULO I

ANTECEDENTES.

HISTORIA.

La introducción del estudio citogenético ha ayudado a conocer alteraciones cromosómicas específicas en los diferentes tipos de leucemia, lo cual ha permitido ampliar los conocimientos en el fenómeno de la transformación maligna de las células.

Los estudios sobre leucemias se iniciaron desde la época de Hipócrates estableciéndose en esa época los signos y síntomas de este padecimiento. Sin embargo fue hasta 1845 cuando se consideró como una enfermedad clínica por Craigie y Bennet (2). En 1846 Virchow (3) introdujo el término "Leucemias" al observar que el aumento de glóbulos blancos era característico de la enfermedad. Reconociendo dos formas: en una de ellas predominaban las formas pequeñas de células blancas, y había agrandamiento de ganglios linfáticos; en la segunda estaban aumentados el número de leucocitos mayores y había esplenomegalia (3).

A principios de siglo Boveri (1914) (4) postuló su teoría sobre el origen cromosómico del cáncer en la que explicaba que las alteraciones cromosómicas eran causadas por la proliferación maligna de las células. Sin embargo como no existían otros estudios que confirmaran sus ideas, su trabajo permaneció en el olvido hasta a mediados de siglo cuando se realizaron grandes avances en la técnicas citogenéticas, como el uso de la colchicina que es una sustancia que impide la formación del huso acromático y el empleo de la solución hipotónica que permite la dispersión de los cromosomas (4,5).

A partir de ese momento se empezaron a realizar una gran cantidad de estudios citogenéticos en mamíferos, sobresaliendo el trabajo de Tjio y Levan en 1956 (6) quienes determinaron el número cromosómico humano. Posteriormente

Nowell (1960) (7) descubrió que los linfocitos in vitro lograban una mejor transformación si se les adicionaba al medio de cultivo un agente mitogénico (fitohemaglutinina). Simultáneamente Moorhead y cols (8) implementaron una microtécnica de cultivo de sangre periférica que implicaba menor tiempo y mayor efectividad (8).

Importantes descubrimientos sobre cambios cromosómicos y cáncer se llevaron al cabo en ese mismo año (1960), tales como la demostración de la primera alteración cromosómica asociada con una neoplasia específica, el cromosoma Filadelfia (Ph') en la leucemia mieloide crónica, por Nowell y Hungerford (9).

Con la introducción de las técnicas de bandeo por Caspersson y cols (1970) (10), se mostró que los cromosomas teñidos con colorantes de quinacrina, producen patrones característicos y reproducibles de bandas haciendo posible la identificación de cada cromosoma del cariotipo humano. A partir de entonces numerosas técnicas que producen patrones de bandas en cromosomas en metafases han sido reportadas. Mediante el empleo de estas técnicas de bandeo, en los estudios citogenéticos se han podido detectar anormalidades cromosómicas específicas que se relacionan con el desarrollo y progresión de las neoplasias (11,12). En pacientes con leucemia el uso de esta metodología ha revelado que la mayoría (50-70%) de los pacientes con esta patología tienen anormalidades cromosómicas al momento del diagnóstico (13).

La introducción de la técnica de alta resolución por Yunis (1976) (14) ha permitido obtener cromosomas prometafásicos con mayor calidad para llevar a cabo un análisis cromosómico más detallado y de esta manera poder detectar con mayor precisión las alteraciones de tipo estructural. El uso de esta técnica ha demostrado aberraciones cromosómicas en aproximadamente 95% de los casos de leucemia aguda (15,16,17).

En la actualidad con el empleo de las técnicas de biología molecular se ha alcanzado una mayor resolución en la detección de rearreglos cromosómicos que con las técnicas citogenéticas no son percibidos (18).

CLASIFICACION DE LEUCEMIAS.

La leucemia es una enfermedad neoplásica maligna, que se caracteriza por una proliferación desordenada de las células sanguíneas o sus precursores. Debido a que las células leucémicas no maduran, mantienen la capacidad de dividirse, no pueden llevar al cabo sus funciones normales y el resultado es la abundancia de un solo tipo celular (18,19).

Existen diversas clasificaciones de leucemias, las cuales se basan principalmente en sus características morfológicas, citoquímicas, inmunológicas y citogenéticas.

Posiblemente el primero en establecer una clasificación para las leucemias fué Virchow en 1857 (2), a partir de entonces se han propuesto numerosos tipos de clasificaciones. Sin embargo en 1976 el grupo Franco-Americano-Británico (FAB) unificó criterios y propuso una clasificación basada en características morfológicas y citoquímicas. Sin embargo, este mismo grupo se volvió a reunir en 1981 para hacer algunos cambios en estos criterios, los que actualmente se utilizan (18,20,21).

2.1. CLASIFICACION DEL FAB.

De acuerdo a los criterios de clasificación propuestos por el grupo FAB, las leucemias inicialmente se dividen en: agudas, cuando tienen más de 30% de blastos en sangre periférica y/o médula ósea o crónicas: cuando tienen menos de 30% de blastos en sangre periférica y/o médula ósea (22).

Las leucemias agudas se clasifican en Linfoblásticas y Mieloblásticas, que a su vez se dividen en varios tipos (21,23). (Ver tabla 1).

2.1.1. LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA.

Los criterios establecidos para clasificar las leucemias linfoblásticas agudas (LLA) por el grupo FAB son: relación núcleo-citoplasma, tamaño, frecuencia y apariencia de nucleólos, contorno de la membrana nuclear y tamaño celular (24).

De acuerdo a sus características morfológicas, las LLA se clasifican en:

L1 Leucemia Prolinfocítica Aguda.- En este subtipo la célula puede presentar un anillo angosto de citoplasma, y en algunos casos parece estar limitado solo a pequeñas porciones del perímetro de la célula. Presenta nucleólos pequeños, mal definidos, a menudo incompletos y no se diferencian de la cromatina que los rodea. El núcleo puede ser redondo o angular, puede contener estrechas hendiduras, pliegues o dentaciones, pero no distorsiona la totalidad del contorno nuclear. Las células tienen generalmente un tamaño pequeño hasta de dos veces menor que el tamaño de un linfocito pequeño (21,23).

L2 Leucemia Prolinfoblástica Aguda.- El citoplasma ocupa 20% o más de la superficie total de la célula. Presenta nucleólos prominentes, vesiculares y generalmente tiene condensación de la cromatina perinuclear. El núcleo puede ser reniforme o irregular y su contorno está distorsionado por anomalías tales como amplias muescas o fosas, las cuales pueden estar restringidas a una parte del contorno nuclear, las células son grandes y heterogéneas (21,23).

L3 Leucemia de Burkitt Aguda.- Se caracteriza por tener células grandes y homogéneas, cromatina nuclear finamente suspendida y homogénea, núcleo oval o

TABLA I. CLASIFICACION DE LEUCEMIAS AGUDAS (21,23).

LINFOBLASTICAS	L1	Prolinfocítica
	L2	Prolinfoblástica
	L3	Burkitt
MIELOBLASTICAS	M1	Mieloblástica indiferenciada
	M2	Mieloblástica con maduración
	M3	Promielocítica
	M4	Mielomonoblástica
	M5	Monoblástica
	M6	Eritroblástica
	M7	Megacarioblástica

redondo de contorno regular; uno o más nucleólos prominentes y vesiculares, citoplasma moderadamente abundante, muy basófilo y vacuolización prominente (21,23).

2.1.2 LEUCEMIA MIELOBLASTICA AGUDA

De acuerdo a sus características morfológicas las leucemias mieloblásticas agudas (LMA) se dividen en:

M1 Leucemia Mieloblástica Aguda.- Se caracteriza por presentar blastos sin gránulos o con algunos gránulos azurófilos, puede presentar cuerpos de Auer, uno o más nucleólos, 3% ó más de blastos mieloperoxidasa positivos y es evidente la maduración granulocitaria (21).

M2 Leucemia Mieloblástica Aguda con maduración.- Presenta blastos pero existe una buena proporción de maduración mieloide, más del 50% de las células son mieloblastos y promielocitos. La mayoría de las células tienen gránulos azurófilos. Es común la presencia de cuerpos de Auer. Algunos mieloblastos pueden parecer monoblastos, por lo que es necesario usar tinciones citoquímicas. Los casos con hiperplasia eritroide (con menos del 50% de eritrocitos) pero sin la morfología de la eritroleucemia (M6) se incluyen en este grupo (21,23).

M3 Leucemia Promielocítica Aguda.- La mayoría son promielocitos anormales, el núcleo varía grandemente de tamaño y contorno, a menudo es reniforme o bilobulado. El citoplasma está completamente ocupado por gran cantidad de gránulos teñidos de color rosa brillante, rojo o púrpura, e inclusive algunas células contienen cuerpos de Auer. En ocasiones es necesario distinguirla de la M2 por el abundante número de promielocitos en ésta (21,23).

M4 Leucemia Mielomonocítica Aguda.- Hay participación de precursores granulocíticos y monocíticos, siendo indistinguible de M1 ó M2 por la

morfología. Pero pueden ser diferenciadas aplicando técnicas citoquímicas, resultando positivas para esterasas, mieloperoxidasa y Sudán Negro en más del 20% de blastos (21,23).

M5 Leucemia Monocítica Aguda.- Puede presentarse como: a) pobremente diferenciada (monoblástica) con grandes monoblastos de cromatina delicada y nucleólos vesiculares prominentes, el citoplasma es abundante, a menudo tienen pseudópodos, rara vez con gránulos azurófilos, b) diferenciada, la proporción de promonocitos es más alta en la sangre periférica que en la médula ósea, en ocasiones pueden presentar cuerpos de Auer y la citoquímica ayuda a diferenciarlos de M2 y M4 (21,23).

M6 Leucemia Eritrocítica Aguda.- El componente eritropoyético comúnmente excede 50% de todas las células de la médula ósea y los eritroblastos muestran los grados más variables en su morfología, especialmente lobulación múltiple del núcleo con variaciones en el tamaño de los lóbulos, más de dos nucleólos, presencia de uno o más fragmentos nucleares, formas gigantes o cuadros megaloblásticos. Los eritroblastos comúnmente se presentan en la sangre periférica. Las células granulopoyéticas muestran mieloblastos y promielocitos, y en ocasiones cuerpos de Auer, el porcentaje de estas células es menor de 30%. Una alternativa en el diagnóstico es un síndrome dismielopoyético. Se pueden presentar también megacariocitos anormales. La M6 casi siempre progresa a M1, M2 o M4. En algunas situaciones puede confundirse con anemia megaloblástica o anemia diseritropoyética congénita (21,23).

M7 Leucemia Megacarioblástica Aguda.- Este subtipo se aparta de los criterios propuestos por el FAB, ya que para llevar a cabo un diagnóstico adecuado se requiere de técnicas químicas ultraestructurales e inmunológicas. En esta variedad el mielograma muestra infiltrado de células leucémicas que comprenden el 30% o más de todas las células, las cuales pertenecen a un linaje

megacariocítico probado por la reacción de peroxidasa plaquetaria en el microscopio electrónico o por pruebas con anticuerpos específicos antiplaquetarios, monoclonales o policlonales. La mayoría de los pacientes presentan mielofibrosis o aumento de la reticulina en la médula ósea (23,24).

2.2. PRUEBAS CITOQUIMICAS.

Se han establecido procedimientos de coloración citoquímica como auxiliares en la identificación de los diversos tipos celulares de leucemia aguda. Algunos de los métodos empleados están basados en la demostración de ciertas enzimas y constituyentes químicos de las células, los que caracterizan la tendencia y grado de diferenciación. Las técnicas empleadas son:

1) **Reacciones del PAS Shiff.-** Ponen de manifiesto glucógeno, glucoproteínas y algunos mucopolisacáridos. Con esta técnica los blastos de LLA presentan una importante cantidad de gránulos color rojo de tamaño y forma irregular (glucógeno), en cuanto mayor sea la maduración de la célula. Los elementos mieloides y monocitoides son positivos. Algunos monoblastos pueden presentar positividad a esta reacción (aunque sea menor que los mieloblastos). Es positivamente franca en la Eritroleucemia (25,26,26).

2) **Reacción de Sudán Negro "B".-** Esta reacción es de gran utilidad en la identificación de LMA. El sudán negro "B" tiñe diversos lípidos incluyendo grasas neutras y fosfolípidos. Con esta tinción los elementos granulocitarios, desde mieloblastos (incluyendo bastones de Auer) hasta polisegmentados, presentan coloración gruesa azul-negro en su citoplasma. Esta granulación constituye la positividad de esta reacción. Desafortunadamente 10% de estas leucemias dan positividad a la reacción de PAS Schiff. Los monocitos pueden ser debilmente positivos en forma de granulación fina, en tanto que en la LLA esta reacción es siempre negativa (25,26,27).

3). **Reacción de Mieloperoxidasa.**- Las peroxidases son hemoproteínas de naturaleza enzimática que catalizan la oxidación por peróxido en una gran variedad de sustancias. El principio de la reacción es un sustrato(generalmente bencidina) que produce un color intenso café verdoso y estable. Con esta reacción los elementos eritroides jóvenes, adultos y granulocitarios, en toda su gama de maduración son positivos. Los granulocitos ofrecen una coloración parduzca escasa en el mieloblasto y más importante a medida que la célula madura. En forma difusa se tiñen los eritrocitos y los monoblastos y monocitos ofrecen escasa actividad. El tejido linfático es negativo (25,26,27).

4). **Reacción de Cloroacetato Esterasa.**- Esta reacción tiene por objeto evidenciar la existencia de esterasas específicas del tejido granulocitario, siendo similar en sensibilidad al sudán negro B. La positividad consiste en la granulación rojo brillante en el citoplasma de las células granulocitarias exclusivamente. Todas las demás células hemáticas son negativas (25,26,27)

5) **Reacción de Esterasas Inespecíficas y de inhibición con alfa naftil butirato (NaF).**- Todas las células tienen diversas clases de enzimas esterasas, las que con el empleo de alfa naftil butirato se precipitarán en el citoplasma, dando una granulación escasa y fina de color verde-café. Debido a las características particulares del tejido monocitario la reacción señalada se evita al agregar a la mezcla de tinción una pequeña cantidad de NaF, impidiendo su demostración en tanto que en el de las la células blancas esta inhibición es inexistente. Todas las células leucocitarias maduras e inmaduras van a ofrecer esta tinción como positiva. Sin embargo, las laminillas teñidas con NaF, si son de estirpe monocitaria no ofrecen tinción alguna, en tanto que los elementos mieloides y linfáticos si la presentarán. Esta reacción

constituye la única manera de identificar plenamente a las células monoblásticas (25,26,27).

Las principales reacciones citoquímicas se muestran en la Tabla II.

2.3. CLASIFICACION INMUNOLOGICA.

Los parámetros establecidos por el grupo FAB para la clasificación de leucemias agudas considera únicamente criterios morfológicos, pero hay que tomar en cuenta que los linfocitos son células sanguíneas que forman parte del sistema inmune. En las leucemias agudas, los linfocitos pueden ser de tipo B, que se caracterizan por la presencia de inmunoglobulinas en la superficie de la membrana (SmIg) o de tipo T, que terminan su maduración en el timo e intervienen en el reconocimiento del antígeno en el proceso de inmunidad celular. Estas últimas se encuentran relacionadas con la regulación de la respuesta de las células B y la producción de inmunoglobulinas. Es necesaria la aplicación de marcadores específicos de linfocitos B o T y de enzimas de las células blásticas, para poder determinar el tipo de células implicadas en el desarrollo leucémico. Para realizar el estudio inmunológico de las leucemias agudas se requiere del inmuno análisis y/o anticuerpos monoclonales (28,29).

A nivel molecular los cambios que se presentan en la maduración de linfocitos B son rearreglos del ADN en los genes de inmunoglobulinas de la línea germinal. Dichos loci se localizan en tres cromosomas: el locus de cadenas pesadas en 14q32; el locus de cadenas ligeras kappa en 2p12 y el locus de cadenas ligeras lambda en 22q11. Durante la etapa temprana de diferenciación de la célula B, tienen lugar reajustes genéticos estructurales que unen los exones de los genes para las regiones variables (V), de

diversidad (D) y de enlace (J) de cadenas pesadas de inmunoglobulinas y de regiones V y J de cadenas ligeras (28,29,30).

La expresión de estos genes, lleva la diferenciación hacia células B por la recombinación somática de los elementos de la línea germinal. Cuando las moléculas son ensambladas se presentan en el citoplasma, después de la maduración de las células B, se expresan en la superficie celular y son detectadas por reacciones biológicas (31,32).

En neoplasias de células B se han observado rearrreglos cromosómicos que afectan estos loci produciendo eventos recombinantes anormales que contribuyen a la proliferación maligna de las células. Existen translocaciones que implican las bandas 14q32, 2p12 y 22q11 donde se localizan los loci de cadenas pesadas de Ig (33,34).

Los rearrreglos y organización de los genes para receptor de las células T (RTC) durante la diferenciación de células T son análogos a los cambios observados en los genes de Ig, así como en los precursores de células B. Se han identificado cuatro tipos de ADN específicos para RTC: alfa, beta, gama y delta (35). Los genes que codifican para las cadenas alfa y delta han sido mapeados en el cromosoma 14q11-q12; este locus está implicado en translocaciones y deleciones de neoplasias de células T humanas (36). El locus de beta ha sido identificado en la región q32-36 del cromosoma 7. Se ha observado que existe una correlación entre la presencia de la anomalía 7q- y la expresión de un receptor para el factor de crecimiento de células T (TAC) en adultos, sugiriendo que el defecto cromosómico es directamente responsable de la activación del gen TAC (36). Por otra parte el gen para la cadena gamma se localiza en el cromosoma 7p15, en la que tiene lugar la ruptura cromosómica característica de Ataxia-Telagentaxia (37)

TABLA II. CUADRO GENERAL DE CITOQUIMICA DE LEUCEMIAS AGUDAS (26).

TIPO DE CELULA	PAS	SUDAN NEGRO	MIELOPE- ROXIDASA	ESTERASA INESPECI- FICA.	ESTERASA INHIBIDA POR NaF.
Linfoblasto	+++	-	-	+	+
Mieloblasto	-	++++	+++	+/-	+/-
Monoblasto	+/-	+/-	+/-	+++	-

Nota: La reacción de cloroacetato esterasa da los mismos resultados que la sudan negro.

2.3.1. CLASIFICACION INMUNOLOGICA DE LLA.

Las leucemias de origen linfoide, pueden presentar marcadores inmunológicos para células B, T o no mostrar ninguno de éstos (5).

Por medio de heteroantisueros o más recientemente por anticuerpos monoclonales, se ha podido encontrar un antígeno común en la mayoría de las leucemias linfoblásticas denominado "antígeno común" (CALLA) el cual es altamente específico para los blastos linfoides leucémicos. Hay casos en que estos marcadores son negativos, por lo que reciben el nombre de "nulos" y también hay los que presentan etapas de maduración anteriores a B por lo que se denominan "pre B" o a T "pre T" respectivamente (28). En la tabla III se observa la clasificación de las leucemias linfoblásticas de acuerdo a estos criterios y se señalan los métodos de laboratorio empleados.

2.3.2. CLASIFICACION INMUNOLOGICA DE LMA.

Esta clasificación se basa en la expresividad antigénica de las células blásticas detectadas por anticuerpos monoclonales específicos para las diferentes líneas celulares. Estos son: CD13 y CD11 para la línea granulomonocítica; CD15 para la línea granulocítica; CD14 para la línea monocítica; CDW41/42 para plaquetas; antiglicoforina A (GLICOF) para la línea eritroide; anti HLA-DR y CD9 para células precursoras, estableciéndose 8 categorías fenotípicas que se muestran en la Tabla IV (38,39).

Existen trabajos donde se ha reportado que la relación entre la clasificación FAB y la inmunológica es solo parcial, ya que la mayoría de los inmunofenotipos se encuentran integrados por más de un subgrupo del FAB (39,40). (Ver Tabla IV).

Por lo anterior se ha establecido que la clasificación inmunológica es de gran importancia, sobre todo en aquellos casos en que los criterios

TABLA III. MARCADORES INMUNOLOGICOS EN LLA (28)

	IgM	Igs.S	Ia	CALLA	Roset. E	Ag Timo	%
NULA	-	-	-	-	-	-	10
COMUN	-	-	+	+	-	-	70
PRE T	-	-	+/-	+/-	-	+	4-5
T	-	-	-	-	+	+	20-25
PRE B	+	-	+	+	-	-	15
B	-	+	+	-	-	-	2

IgM.- intracitoplasmática por inmunofluorescencia.
 IgsS.- inmunoglobulinas de superficie encontrada por Igs fluorescentes.
 Ia.- antígeno insuño asociado a histocompatibilidad encontrados con antisueros específicos.
 CALLA.- antígeno común a la LLA encontrados por antisueros específicos.
 Rosetas E.- rosetas que forman las células linfoides.
 T al ponerse en contacto con eritrocitos de carnero.
 Ag timo.- antígeno tímico, encontrado por antisueros específicos.

TABLA IV. MARCADORES INMUNOLOGICOS DE LMA (28,39).

FENOTIPO	CD11/13	CD15	CD14	Glicof	CDW41/42	HLA-DR	CD9
INDIFERENCIADO	-	-	-	-	-	+/-	+/-
MIELOBLASTICO	+	-	-	-	-	+	+
PROMIELOCITICA	+	-	-	-	-	-	+
MIELOCITICA	+	+	-	-	-	+	+
MIELOMONOCITCA	+	+	+	-	-	+	-
MONOCITICA	+	-	+	-	-	+	+/-
ERITROIDE	+	-	-	+	-	+	+/-
MEGACARIOCITICA	+	+/-	+/-	+/-	+	+	+

TABLA V. RELACION DE LA CLASIFICACION FAB E INMUNOLOGICA (38,39,41)

FAB	INDIF	MB	MI	MM	MO	PRO	ER	MK	HIB
M1	+		+						
M2		+	+						
M3						+			
M4		+		+					
M5a	+								
M5b				+	+				
M6							+		
M7								+	+
Inclasif.	+							+	+

Inclasif = inclasificables de acuerdo con el criterio del FAB

MB = fenotipo mieloblástico.

MI = fenotipo mielocítico.

MM = fenotipo mieloesclerótico.

MO = fenotipo monoblástico.

PRO = fenotipo promielocítico.

ER = fenotipo eritroide.

MK = fenotipo megacarioblástico.

HIB = fenotipo híbrido.

morfológicos del FAB no permiten su clasificación (41).

2.4. CLASIFICACION MORFOLOGICA, INMUNOLOGICA Y CITOGENETICA (MIC).

Los estudios citomorfológicos e inmunológicos realizados para la clasificación de las leucemias agudas no eran del todo complementarios, por lo que en 1986 (42) se reunió un grupo de científicos para establecer que además de los estudios inmunocitoquímicos y morfológicos se debía realizar un estudio citogenético en los paciente con leucemia. De ahí surgió la clasificación denominada MIC.

El MIC combina una clasificación patobiológica con conocimientos genéticos sobre cambios en la maduración de los linfocitos que los llevan a ser células inmunocompetentes. Estos cambios se asocian con alteraciones cromosómicas que condicionan el proceso leucémico (22,42).

2.4.1 CLAFICACION DEL MIC EN LLA.

El grupo MIC estableció inmunológicamente cuatro clases de LLA de células B que son: 1) las LLA de células precursoras-B, 2) LLA de células-B, 3) LLA de células comunes y 4) LLA de células pre-B (42).

Las LLA precursoras-B abarca a las consideradas células nulas por el tipo de inmunorreactividad y la presencia de rearreglos en los loci de Ig, que indican que las células se dirigen a una diferenciación de celulas B. El grupo del cual madura B corresponde a morfología L1, L2 o ambas y son compatibles con este inmunofenotipo (42,43).

LLA-B es la leucemia aguda de línea B más madura, es diagnosticada cuando las células leucémicas expresan Ig en la superficie celular. Estas células leucémicas corresponden a la morfología L3 por FAB (42,43).

LLA común (LLAc) las células leucémicas que expresan CALLA son consideradas como una maduración adicional de LLA-preB. Este subtipo es más frecuente en niños. Las morfologías L1 y L2 son compatibles con este inmunofenotipo (42,43).

LLA-preB. Leucemia aguda en la que sus células expresan Ig (generalmente cadenas pesadas μ) en el citoplasma. Corresponde a una morfología L1 por los criterios del FAB (42,43).

Por medio de una reacción citoquímica y determinación de fosfatasa ácida combinada con métodos inmunológicos y de genética molecular se determina cuando una leucemia se origina en una célula T. Esto se basa en la presencia de marcadores específicos de células T en la membrana de las células y en la formación de rosetas eritrocíticas que distinguen dos tipos de LLA. 1) LLA precursor-T y 2) LLA células-T. Ambos tipos inmunológicos pueden tener morfología L1 o L2 (42,43).

El grupo MIC ha establecido citogenéticamente diferentes subtipos de LLA considerando principalmente los siguientes:

L1/t(1;19)(q23;p13) está asociada con células pre-B pero se desconoce en qué porcentaje, aunque parece ser que es en una frecuencia baja (4-5%) (42).

L1 o L2/t(4;11)(q21;q23) está asociada con células pre-B. Pero existen estudios de células leucémicas que con esta alteración presentan factores de línea mieloide y linfoide, lo cual sugiere un origen mielomocítico muy temprano de las células blásticas (42).

L3/t(8;14)(q24;q32) está asociada específicamente a neoplasias de células-B. Se presenta en el 75-85% de los casos y el resto presenta una translocación

variable que implica a 8q24; y puede ser t(8;22)(q24;q11) o t(2;8)(p12;q24), se han reportado cambios cromosomales adicionales en 70% de los casos (42).

L1 o L2/t(9)(p21) se caracteriza por un inmunofenotipo compatible con células-T ,marcada leucocitosis y se presenta con mayor incidencia en la población adolescente (42).

L1/t(12)(p12) se caracteriza porque la mayoría de los pacientes presentan morfología L1 excepto los que presentan inmunofenotipo de LLAc. Los cambios estructurales incluyen deleciones terminales, así como translocaciones balanceadas y no balanceadas con cromosomas variables (42).

2.4.2 CLASIFICACION MIC DE LMA.

El grupo MIC estableció nuevos subtipos morfológicos de leucemias con anormalidades cromosómicas específicas. La clasificación propuesta por este grupo se basa en tres parámetros: 1) caracterización inmunocitoquímica, 2) clasificación del FAB e 3) información citogenética. De acuerdo a lo anterior se establecieron 10 subtipos de LMA (43,44).

M2/t(8;21)(q22;q22) La médula ósea presenta blastos grandes con granulaciones anormales y cuerpos de Auer en un alto porcentaje. Tienen cierto grado de maduración granulocítica. En el 4% de los casos se presentan translocaciones complejas. Cambios cromosómicos adicionales a la t(8;21) ocurren en 80% de los casos, generalmente son pérdidas de cromosomas sexuales y deleción intersticial del cromosoma 9q34 (44).

M3 o M3v/t(15;17)(q22;q12). La translocación es específica para ambas formas de M3 y ha sido observada en el 90% de los casos. Sólo una tercera parte de los pacientes presentan trisomía 8 como cambio adicional (44).

M5a/t(11q;v). Esta alteración se presenta con mayor frecuencia en niños y a menudo con leucemia congénita. En las leucemias con t(11q) predominan los monocitos (44).

M4E0/inv/del/t(16)(q22). En la médula ósea de estos pacientes se detectan eosinófilos anormales, esterasa positivos con granulaciones PAS (+). Este subtipo presenta alteraciones estructurales en el cromosoma 16 que pueden ser inv, del y translocaciones, con trisomía 8 como cambio cromosómico secundario (44).

M1/t(9;22)(p21;q34). Los pacientes con LMA PH(+) presentan muchas células cromosómicas normales y el cromosoma Ph' desaparece durante la remisión. El cromosoma Ph' que se observa en esta alteración es indistinguible citogenéticamente del que se ve en LGC. La presencia de translocaciones variantes es rara en este subtipo (44).

M2/t(6;9). Se presenta cuando la médula ósea cursa con basofilia, aunque también se presenta en M4. Aproximadamente el 20% de los pacientes presentan antecedentes de síndrome mielodisplásico (44).

M1, M2 o M4/inv(3). La inversión (3)(q21-q26) está asociada con una variedad de novo. Los pacientes presentan trombocitosis parcial o absoluta en los subtipos M1, M2 y M4 (44).

M5b/t(8;16)(p11;p13). Las células leucémicas presentan eritrofagocitosis significativa que se asocia específicamente con la anormalidad citogenética (44).

M2 con basofilia/t/del(12)(p11-13). La mayoría de los pacientes presentan blastos granulares y las células muestran evidencias de maduración hacia basófilos. Los blastos contienen gránulos basofílicos que solo pueden ser observados con microscopía electrónica. Un porcentaje pequeño de blastos

tienen actividad de peroxidasa+, y solo por anticuerpos monoclonales se detecta la naturaleza mieloide (44).

M2 o M4/+4. La trisomía 4 se encuentra asociada específicamente a M2 o M4 (44)

Con la clasificación del MIC se ha podido establecer una relación específica entre los hallazgos morfológicos, inmunológicos y citogenéticos que es de gran utilidad para establecer un esquema terapéutico adecuado para el paciente y poder inducir la sobrevida en cada caso (42,43,44)

3. ETIOLOGIA DE LAS LEUCEMIAS

Aunque hasta el momento se desconocen las causas de la leucemia humana, cada vez es más evidente que no se trata de un solo factor causal. Actualmente se considera a las leucemias como un proceso de múltiples desórdenes, y que en cada uno de ellos podrían intervenir diferentes factores de riesgo. Estos factores pueden ser genéticos y/o ambientales (físicos, químicos y biológicos) que por sí solos no producen leucemia, sino que incrementan la susceptibilidad del individuo a desarrollar la neoplasia (1,31,45).

3.1 FACTORES FISICOS.

Los factores físicos considerados en la etiología de las leucemias son: las radiaciones ionizantes (rayos X, gamma, electrones, protones y partículas alfa) y los no ionizantes (ondas electromagnéticas) (36,46).

Los primeros en describir el efecto leucemogénico de la radiación ionizante fueron Von Jagic y cols, en 1911. Desde entonces se han reportado muchos casos de leucemia (individuales y en pequeños grupos) atribuidas a exposición de radiación (47). También se han observado que cuando se emplean radiaciones ionizantes como tratamiento de pacientes con neoplasias hematológicas (Hodgkin, no Hodgkin, LLC y linfomas), tumores sólidos y

enfermedades no neoplásicas (espondiloartritis anquilopoyética), se produce un incremento en la incidencia de leucemias agudas (principalmente LMA y en menor proporción LLA) (35,45,48). También las radiaciones endógenas en forma de terapia con isótopos radiactivos pueden contribuir al desarrollo de leucemia aguda, tal es el caso de policitemia vera con P32, del hipertiroidismo como I131 y procedimiento de diagnóstico radiológico durante el embarazo (45,46).

Por otro lado existen estudios en personal militar expuesto durante pruebas de explosiones nucleares en los que se ha demostrado un incremento en la incidencia de LMA (45).

De todos estos reportes los que presentan una evidencia mayor son los estudios en los sobrevivientes de las bombas atómicas de Hiroshima y Nagasaki en 1945. Estos pacientes presentaron un período de latencia relativamente corto, de 5 a 21 años entre la exposición y la aparición de la leucemia. La cantidad y calidad de la exposición a la radiación han sido cuidadosamente investigadas y se ha demostrado una relación lineal entre dosis acumulativas y la incidencia de leucemias (46,49,50,51).

También se ha visto que con la radiación liberada por la bomba atómica se producen alteraciones cromosómicas en un tipo de célula del sistema hematopoyético multipotencial, común para líneas linfoides y mieloides (50).

El accidente en 1986 de la planta nuclear de Chernobyl en la URSS, que originó la liberación de isótopos radiactivos a la atmósfera provee de un modelo similar al de la bomba atómica (52).

Aunque se desconoce el mecanismo de acción exacto de las radiaciones ionizantes sobre las células hematopoyéticas y su transformación leucémica, se cree que origina entre otras cosas mutaciones puntuales en los ácidos nucleicos. La radiación ionizante aporta al material que la absorbe suficiente energía para ionizar átomos y moléculas que encuentran a su paso. Este

mecanismo ha sido comprobado en perros expuestos a radiación in útero que desarrollan LMA por activación de oncogenes de la familia c-ras. Esta es inducida por una mutación puntual específica en los codones 12, 13 ó 61, que codifican para glicinas y que son sustituidas por ácido aspártico, en la proteína p21 ras (46,49,53,54).

También se ha observado que la radiación causa activación de virus endógenos. Sin embargo este mecanismo no ha sido demostrado en humanos, sólo en roedores (46). Las alteraciones cromosómicas que pueden producir las radiaciones ionizantes son generalmente estructurales (deleciones, translocaciones, cromosomas en anillo, dicéntricos, fragmentos acéntricos, figuras tri y tetraradiadas etc.) y marcadores cromosómicos adicionales (46,50,54). Se ha reportado trisomía 4 en pacientes con LMA-M4 desarrollada después de exposición a radiaciones por cáncer de mama; y t(2;12); del(11q) y anillos en LLA bifenotípica secundaria a terapia con rayos X (54,55).

Los efectos biológicos de las radiaciones no ionizantes de baja energía han originado controversia. Experimentos en animales sugieren que las ondas electromagnéticas pueden ser leucemógenas para el hombre. Sin embargo en los estudios epidemiológicos realizados los resultados son diferentes. En algunos se sugiere un riesgo mayor hacia la leucemia si hay exposición a áreas eléctricas y magnéticas (46,56). También se ha reportado mayor frecuencia de leucemias (LMA) en los trabajadores electricistas (57,58). En cambio entre los operadores de teléfonos ese riesgo parece no estar aumentado (59). Por otra parte, existen informes acerca de que la gente que vive cerca de un equipo de transmisión es quien presenta mayor riesgo de cáncer (58), mientras que otro reporte considera que no hay tal relación (56). La causa precisa de las alteraciones en individuos expuestos a fuentes eléctricas o magnéticas aún no es clara, ya que también están en contacto con otros agentes tales como humo

metalizado, ceras sintéticas, resinas epóxicas, naftalenos clorados, bifenilos clorados y otros. La hipótesis de que la exposición a áreas eléctricas y magnéticas causan leucemias requiere más estudio (56,60,61).

3.2 FACTORES QUIMICOS.

La producción de leucemia en animales por la exposición a ciertas sustancias químicas ha sido demostrada y muchos compuestos han sido circunstancialmente asociados con la génesis de la leucemia humana. Sin embargo, entre estas sustancias los únicos de efecto leucemógeno claramente demostrado son los hidrocarburos aromáticos benceno y tolueno (62,63).

Existen numerosos estudios en trabajadores ocupacionalmente expuestos a benceno o tolueno con desarrollo de leucemia aguda; quienes reportan una incidencia 10 a 20 veces mayor que en la población general. En la mayoría de los casos se trata de leucemia mieloblástica aguda (LMA) siendo la eritroleucemia (LMA-M6) el subtipo predominante (19,20,45,46).

El cloranfenicol (64), el hexaclorociclohexano (65) y la fenilbutazona (66) han sido incriminados como agentes causales de la leucemia aguda (LMA), sin embargo no existen suficientes trabajos que lo demuestren en forma absoluta.

También se han descrito casos de LMA en trabajadores que manejan óxido de etileno (67). En forma experimental este producto ha demostrado un alto poder mutagénico en diversos organismos. Induce también numerosas aberraciones cromosómicas en ratas, en linfocitos y en personas expuestas accidentalmente. El óxido de etileno se usa en hospitales e industria alimentaria para la esterilización y su efecto parece potenciarse cuando se asocia con metilformato (67).

Se han encontrado evidencias de que la exposición ocupacional a otros agentes puede ser leucemógeno. Existen estudios donde se compararon adultos con LMA cuyos empleos ocasionaban contacto con diversos químicos industriales, insecticidas o derivados del petróleo, con aquellos en cuyos empleos se consideraba no hubiera tal exposición. En los pacientes "expuestos" se encontró mayor frecuencia de aberraciones cromosómicas que en quienes no estuvieron expuestos (83% vs 24%). También se observó con mayor frecuencia la LMA-M2 en los pacientes que tenían contacto con estos productos, mientras que la leucemia mielomonocítica (M4) fue más común en los no expuestos (60). En un estudio subsecuente realizado en 156 pacientes con la LMA, se encontró que la exposición a productos derivados del petróleo parece estar asociada con cromosomas normales en contraste a los expuestos a solventes químicos e insecticidas en donde el 94% presentó cromosomas anormales en su médula ósea (61).

3.2.1 FARMACOS ANTINEOPLASICOS

Actualmente, los diversos tratamientos a base de radiación o quimioterapia en muchos desórdenes malignos, contribuyen a prolongar la sobrevida y en muchos casos a sanar al paciente. Sin embargo esta terapéutica intensiva puede originar una neoplasia secundaria años después de que se recibió el tratamiento, frecuentemente LMA (45).

El tratamiento con gran variedad de agentes alquilantes del tipo de la procabazina utilizada en el tratamiento de la enfermedad de Hodgkin (48), melfalan usado en un gran número de cánceres (68), cloranbucil (69), nitrosurea (70) y otros agentes (67) producen en la mayoría de los casos LMA secundaria. Sin embargo sus efectos han sido derivados de estudios en animales

y no está completamente probado que sean responsables de la neoplasia secundaria (6,45).

Existen numerosos estudios en los que se ha demostrado que a largo plazo los fármacos antineoplásicos producen alteraciones citogenéticas, tales como monosomía 7, trisomía 8, del(7)(q22), del(1)(q23), t(4;11), monosomía 5, hipodiploidia y aberraciones estructurales múltiples. Estos datos están apoyados por estudios de rupturas cromosómicas inducidas *in vitro* con compuestos del tipo melfalan en los cromosomas 5, 7, 11, 17 y significativamente 9q1. La especificidad de los sitios de ruptura puede ser el resultado de una metilación preferencial, ya que estas zonas son ricas en nucleótidos G-C (68,69,70).

En general, los carcinógenos pueden ser de dos tipos completos e incompletos. Los primeros pueden producir tumores por sí mismos, mientras que los segundos requieren además exposición subsecuente de las células tratadas (iniciadas) a agentes promotores, los cuales por sí mismos no son carcinógenos. Estos agentes promotores también pueden conducir al desarrollo de tumores cuando se aplican a tejidos previamente tratados con dosis bajas de un carcinógeno completo, acción que por sí mismo no produciría tumor (35).

Los agente iniciadores y carcinógenos completos casi siempre dañan al ADN (genotóxicos) y parece muy probable que el evento iniciador implique alguna forma de interacción carcinógeno-ADN y daño subsecuente. Esto podría ocurrir con los agentes quelantes al formar etil o metil derivados con las bases nitrogenadas del ADN. Las células iniciadoras persisten en el tejido por largo tiempo después que el agente iniciador ha desaparecido y la lesión producida es estable y hereditaria. Se ignora cuáles podrían ser sustancias promotoras para la leucemogénesis (71,72).

Muchos agentes necesitan ser activados metabólicamente para ser transformados en los carcinógenos que finalmente interactúan con el ADN y pueden modificar las bases nitrogenadas, dependiendo de la dosis y la extensión de la activación metabólica. Esto ocurre con un serie de productos exógenos que forman parte de la dieta o tóxicos habituales que pueden actuar como activadores del sistema enzimático microsomal y efectuar las vías celulares del ácido fólico-timidina. Esto favorecería la manifestación de sitios frágiles induciendo aberraciones cromosómicas severas o activación de oncogenes (70,71).

3.3. FACTORES BIOLOGICOS

Los factores biológicos entran en el grupo de agentes ambientales responsables de algunos tipos de cáncer y comprenden agentes infecciosos como virus, bacterias, hongos y parásitos. De estos los que muestran una evidencia mayor de riesgo en neoplasias de vertebrados son los virus (35).

3.3.1. VIRUS.

Los virus y su relación con las neoplasias comenzaron a principios del siglo XIX con experimentos que demostraron que la leucosis aviaria era transmitida por partículas submicroscópicas filtrables. Posteriormente se observó que una variedad de leucemias animales estaban íntimamente y etiológicamente relacionadas con los virus. Pero es en 1951 cuando descubren el primer virus que causa leucemia en el ratón. A partir de entonces, se han reportado otros virus asociados a leucemias en animales, como el virus de la leucemia felina y el de la leucemia bovina. Sin embargo no fue sino hasta 1978 cuando se estudió el primer retrovirus humano asociado al desarrollo de neoplasias (72,73,74).

De todos estos hallazgos solo dos son de gran importancia, en el origen viral del cáncer humano. Uno fue el descubrimiento de que ciertos virus del ADN particularmente Papovavirus y Adenovirus transformaban células *in vitro* e inducían la formación de tumores en roedores. El segundo fue el descubrimiento de la transcriptasa reversa y con ella de los retrovirus (31).

Los virus de ADN no se encuentran asociados al desarrollo de leucemias aguda, sin embargo sí se relacionan con otros tipos de cánceres, como el virus de la hepatitis B que a largo plazo ocasiona hepatomas o cáncer de hígado; el virus de Epstein-Barr asociado con linfomas de Burkitt, carcinomas y mononucleosis y SV40 relacionado a sarcomas entre otros (35,75,76,77).

De los virus de ARN, sólo los Retrovirus están asociados como posibles agentes causales en leucemias, linfomas, sarcomas y ocasionalmente en carcinoma en animales. Los retrovirus se diferencian de otros virus animales porque son los únicos cuyo genoma asume ambas formas químicas posibles del ARN y ADN (72,73,78).

Los genes de los retrovirus se incorporan al genoma del huésped. La síntesis de ADN es dirigida por ARN y realizada por la enzima transcriptasa reversa. Sobreviven unidos al material genético de la célula huésped y pueden ser transmitidos de una generación a otra y así conservarse evolutivamente (72,75).

Los retrovirus son de gran utilidad en el análisis del desarrollo tumoral debido a tres características principales que intervienen en él. La primera, que se ha encontrado en un número elevado de especies de vertebrados, donde inducen muchos tipos de tumores, constituyendo modelos experimentales de muchas de las formas más extendidas de cáncer humano. La segunda, en la que resulta relativamente fácil de identificar y aislar oncogenes de retrovirus y descubrir sus productos. La tercera característica es que los oncogenes de

retrovirus no aparecen como componentes propios del genoma vírico; se podría decir, que los genes se hubieran tomado de los huéspedes vertebrados en los que el virus se replica (72,73,78).

Los retrovirus poseen un genoma diploide con dos moléculas de ARN de una sola hélice, unidas por enlaces de hidrogeno en varios puntos. En la replicación de los retrovirus participan tres genes: "gag" que codifica para proteínas estructurales localizadas en el interior de la partícula viral; "pol" que codifica para la transcriptasa inversa y "enu" que codifica para las glicoproteínas de la envoltura membranosa que rodea la partícula viral, también en cada extremo de la molécula existe un segmento pequeño de ARN repetitivo y secuencias únicas no codificantes (U5 y U3) que contienen elementos reguladores "potenciadoras" (secuencias promotoras y exaltadoras para transcripción viral) (79,80,81).

Algunos retrovirus pueden contener solo esos genes y son virus de leucemia crónica (virus no defectivos), o sea que no transforman células in vitro y requieren periodos largos de latencia. Tal es el caso del virus de leucosis aviaria, virus de leucemia felina, virus de leucemia bovina y virus del mono gibón, en los cuales su acción puede ser por inserción de promotores que llevan a la activación de oncogenes celulares (72,73,82).

Algunos retrovirus contienen un determinante genético adicional denominado "gen transformador", "oncogen" o "secuencia transformante", que codifica una porción o la totalidad del polipéptido necesario para la iniciación y mantenimiento del fenotipo neoplásico de la célula huésped. Los oncogenes virales son derivados de genes celulares normales altamente conservados que pueden ser importantes en el funcionamiento celular básico y/o en la diferenciación y proliferación (72,73,82). La adquisición del oncogen implica la pérdida de porciones de algunos genes virales dando lugar a un

defecto en la replicación del virus, y consecuentemente necesitan de un virus "auxiliar" no defectuoso para la replicación. Los retrovirus portan un oncogen transformador agudo que puede inducir rápidamente tumores en animales y transformar células en cultivo. Los virus de este tipo incluyen todos los virus de sarcoma aislado y todos los virus de leucemia aguda (79,80).

Probablemente los provirus son integrados al azar, por lo que serían mutagénicos si son integrados adyacentes a algún gen estructural o en general, en algún sitio del genoma que se transcriba (70,74).

Existen muchos reportes en los que se asocian virus tipo C (retrovirus) y leucemia humana. Tal es el caso de la familia del virus de leucemia/linfoma de células T humanas (HTLV) que abarca tres grupos. El HTLV-I que es el agente etiológico de las leucemias-T adultas (LAT), enfermedad maligna que se caracteriza por la proliferación de las células T anormales. HTLV-II aislado de pacientes de leucemia de células peludas-T, una variante de la células T y que comparte las mismas propiedades biológicas de HTLV-I in vitro. El tercer grupo HTLV-III es considerado como el agente causal del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) caracterizado por la deficiencia e inmunosupresión de células T (73,74,82).

El HTLV-I fue aislado de nódulos linfáticos de un paciente con una variante de linfoma cutáneo de células T (Sx de Sezary) y posteriormente fue estudiado y/o identificado en pacientes japoneses con leucemia/linfoma de células-T de adultos (LLAT- LAT). En la actualidad se sabe que las zonas endémicas para estos virus son las islas del Caribe, Centro y Sudamérica, Africa y regiones del suroeste del Japón (73,74,82).

Estos virus pueden transformar células-T normales in vitro, lo que sugiere que el virus codifica para un gen transformante, el cual está localizado en el extremo 3' del genoma viral y es llamado Px o *lor*, además

codifica para una proteína que funciona como un factor trans-activante que incrementa la transcripción viral. El producto del gen Px sólo activa la transcripción de genes celulares específicos que estimulan células-T (74).

A pesar de las evidencias sobre la asociación retrovirus- leucemia los virus se consideran como uno más de los factores causales de leucemia (46).

3.4. FACTORES GENETICOS.

En los últimos años, se ha incrementado la idea de que las causas del cáncer son amplias y diversas, pero que todas actúan sobre un sustrato común dentro de las células. Existen diversas hipótesis que tratan de explicar el fenómeno leucémico sobre principios genéticos. Uno de ellos supone que el cáncer se puede deber a la acumulación de mutaciones somáticas en sitios susceptibles causando una pérdida del control del crecimiento celular (31,83). La hipótesis de Knudson (84) de iniciación-promoción propone que en el caso de tumores hereditarios debe ocurrir una primera mutación en células germinales (primer evento de carcinogénesis), seguida de una mutación de células somáticas (segundo evento) (84,85,86,87). Por otra parte Matsunaga (88) postuló la hipótesis de resistencia al huésped en la cual propone que la presencia de tumores en forma bilateral o unilateral depende fundamentalmente de los factores de resistencia del huésped, por lo tanto en una familia los sujetos más susceptibles presentarían tumoración bilateral, los más resistentes corresponderían a portadores asintomáticos y aquellos con resistencia intermedia presentarían la forma unilateral (88,89). Otra hipótesis sostiene que la mayoría de los cánceres se podrían originar por la inserción de material genético nuevo, como consecuencia de la infección de células normales por virus tumorales. Aunque ninguna parece explicar el origen de la leucemias,

no se excluyen mutuamente y es posible que estos procesos desempeñen un papel importante en la etiología de las leucemias (31,83).

3.4.1. ORIGEN MONOCLONAL DE LAS LEUCEMIAS.

Se considera que la naturaleza de las leucemias, así como la del cáncer en general es monoclonal, ya que la célula responsable de la enfermedad es intrínsecamente anormal y en consecuencia toda su progenie será anormal (31,83).

El origen clonal de las leucemias y otros tipos de cáncer, ha sido demostrado mediante el uso de marcadores genéticos como la enzima glucosa 6-fosfato-deshidrogenasa (G-6-PD). Esta enzima existe en dos formas A y B que se distinguen por técnicas electroforéticas. El gen de esta enzima se encuentra localizado en el cromosoma Xq28. Durante la embriogénesis temprana, la "lyonización" conduce a la inactivación de un cromosoma X al azar en cada célula y toda su progenie retiene la inactivación del mismo cromosoma. De tal manera que al analizar tejidos no hematopoyéticos de pacientes heterocigotos con algún tipo de leucemia, éstos exhiben una mezcla de la enzima G-6-PD común (B) y de su isoenzima (A). Sin embargo la población leucémica de médula ósea y sangre periférica manifiesta la forma A o la B, pero no ambas, lo cual apoya el origen monoclonal del padecimiento (31,35,90).

También se han desarrollado marcadores moleculares que identifican rearreglos de los genes alfa, beta y gamma del receptor de células T y otros que identifican rearreglos de los genes de inmunoglobulinas en células B, con los cuales se ha podido definir mejor el origen monoclonal de las células leucémicas, principalmente las de la línea linfóide (91,92,93).

3.4.2. FACTORES HEREDITARIOS.

Debido a los múltiples reportes de casos de leucemia familiar se ha sugerido que hay factores hereditarios que condicionan el desarrollo de la enfermedad. Esta agregación familiar ha sido reportada tanto para leucemia linfocítica aguda como para leucemia mieloblástica aguda. El desarrollo de diferentes subtipos de leucemias en una familia sugiere que el factor desencadenante no es un cambio único, sino que pueden ser exposiciones comunes, factores predisponentes o alteraciones genéticas no detectadas en una familia (45,94).

En las familias con varios casos de leucemias, el diagnóstico simultáneo es excepcional, sin embargo el riesgo de desarrollar leucemia continúa durante toda la vida. En los individuos aparentemente normales, sin manifestaciones de enfermedad en el momento del estudio se pueden demostrar anomalías en la función inmunológica o susceptibilidad celular a la información vírica, similares a los afectados (1).

Estudios en gemelos monocigotos muestran que cuando uno de los miembros desarrolla leucemia aguda, el otro mostrará síntomas de la enfermedad en menos de un año en 20% de los casos. Esto se podría explicar por la presencia de un factor hereditario predisponente al desarrollo de las neoplasias y puede ser producto de una mutación durante la gametogénesis por lo que ambos gemelos comparten la anomalía (95). Por otra parte los gemelos monocigotos comparten el mismo ambiente fetal, de tal forma que si ocurre una transformación leucémica en útero, por el intercambio de células sanguíneas se establece al menos una clona maligna en cada gemelo (96,97). En gemelos no idénticos el riesgo también es alto (5 veces más que la población general), sin embargo, este puede estar determinado por factores ambientales como infección intrauterina, radiación o exposición farmacológica (1,45).

3.4.3. ANEUPLOIDIAS QUE PREDISPONEN AL DESARROLLO DE LEUCEMIA

La observación de que las células malignas presentan frecuentemente un número cromosómico anormal (aneuploidías) sugirió que esas alteraciones predisponen al desarrollo de neoplasias. Aún no se ha definido si la aneuploidía representa un evento primario o secundario para la transformación maligna, resulta interesante que individuos con condiciones aneuploides constitutivas desarrollen neoplasias con mayor frecuencia que la población general (98).

El mejor ejemplo son los pacientes con síndrome de Down en los cuales se ha calculado que el riesgo de desarrollar leucemia aguda se incrementa 10 a 20 veces en comparación con el de niños normales de la misma edad. En estos pacientes se ha sugerido que como consecuencia de la aneuploidía, hay un defecto en el sistema inmunológico, por lo que los leucocitos son incapaces de responder antigénicamente a las células leucémicas (98,99). Por otro lado se ha informado la presencia de una sustancia hormonal que al estimular la médula ósea conlleva al principio de leucemias en pacientes con trisomía 21, pero aún no se conoce con certeza su sitio de producción ni su mecanismo de acción (100,101).

Otras alteraciones cromosómicas asociadas a leucemias son: las alteraciones numéricas que implican los cromosomas sexuales XXY, XYY (Sx. Klinefelter) y XO (Sx. Turner) (101,102). Los síndromes de inestabilidad cromosómica como Anemia de Fanconi, Síndrome de Bloom y Ataxia Telagentaxia, con patrón de herencia autosómico recesivo, que se caracterizan por un incremento de rupturas cromosómicas que aumentan el riesgo de desarrollar leucemia aguda. En estos casos la leucemia puede ser el resultado de alguna interacción entre aberraciones cromosómicas y exposiciones ambientales (45).

3.4.4. ONCOGENES.

Desde principios de siglo había indicios de que ciertos virus provocaban tumores en animales. Esta idea se corroboró con el descubrimiento del virus del Sarcoma de Rous en 1911, que forma parte de un grupo de virus tumorales de ARN (75). Los retrovirus son portadores de oncogenes virales (v-onc); capaces de causar tumores malignos en animales de laboratorio y transformación celular in vitro. Estos genes transformantes virales (v-onc) son homólogos a los genes celulares normales, localizados virtualmente en todas la especies en las que se han investigado, desde Neurospora y Drosophila hasta el hombre. Cada oncogen se denominó con tres letras que definen al virus del cual fue aislado (55,105).

Se denomina proto-oncogene a la contraparte celular normal o a la forma inactiva de un oncogen. Estos proto-oncogenes están altamente conservados evolutivamente lo que indica que su función debe ser vital para la economía celular en condiciones normales (104).

La relación de los proto-oncogenes con el desarrollo de neoplasias se ha podido determinar a través de las investigaciones realizadas en cuatro áreas diferentes. La primera enfocó los experimentos de transducción por retrovirus, de los cuales se obtienen evidencias de que todos los vertebrados poseen un gen altamente conservado (src celular) relacionado con el gen src viral que es altamente oncogénico; y que el gen src viral puede provenir de la transducción del gen src celular dentro de un retrovirus (35,103,105).

La segunda área de investigación indagó los mecanismos de mutagénesis por inserción que refiere el potencial mutagénico ocasionado por la integración del ADN viral dentro del genoma del huésped. Esto puede ser ocasionado por dos mecanismos: durante la alteración de una región vital en el

genoma del huésped y por expresión de genes reguladores poderosos del virus, en lugar de los genes del huésped (35,103,105).

La tercera área está constituida por los ensayos de transfección de ADN, la investigación e identificación de genes transformantes en virus tumorales de ARN o ADN. Este proceso se realiza en células de mamíferos y es el equivalente a la transformación de bacterias. En este ensayo de genes transformantes (ADN genómico) obtenidos de tumores humanos o líneas de células tumorales son transferido a células receptoras bien caracterizadas. Este "transfer" contiene oncogenes humanos activados que causan en la célula huésped alteraciones morfológicas con propiedades tumorales como resultado de la incorporación del ADN (85,104,106,107). Esta metodología permitió identificar a varios miembros de la familia ras. En la actualidad un sinnúmero de genes transformantes se han estudiado, en ellos se encuentran los oncogenes neu (107), met (108), trk (109,110), mas (111), erbB (112) y k53 (113).

La cuarta área de investigación consiste en la identificación de oncogenes potenciales en rearrreglos cromosómicos específicos de neoplasias, por medio de hibridación in situ. Esto ha permitido caracterizar los oncogenes implicados en el desarrollo de linfomas de Burkitt (c-myc); LGC (bcl-c-abl), linfoma de células B adultas (bcl-1) y linfoma folicular (bcl-2) entre otros (35,104,114,115).

3.4.5. MECANISMOS DE ACTIVACION DE PROTO-ONCOGENES

Los proto-oncogenes constituyen un grupo heterogéneo de secuencias de ácidos nucleicos, que se pueden expresar en todas la células normales sin causar neoplasias. Para que un proto-oncogen cause transformación maligna necesita ser activado. Esta activación incluye cambios cualitativos que dañan a un gen celular, ocasionando alteraciones funcionales, tal es el caso de las

mutaciones puntuales y los rearrreglos cromosómicos (103,116). La transducción retroviral y la amplificación génica son los cambios cuantitativos (dosage) que originan una expresión excesiva de un gen normal que le da a la célula un fenotipo neoplásico (103,115,116).

Por inserción retroviral hay afección a nivel de transcripción aumentando la cantidad del producto génico. Esto ocurre por el mecanismo de acción de secuencias amplificadas virales "enhancer" (potenciador) que incrementa la utilización de promotores de transcripción y la amplificación génica que son los cambios cuantitativos (dosage) que originan una expresión excesiva de un gen normal que le da a la célula un fenotipo neoplásico (103,115,116).

Por inserción retroviral también hay afección a nivel de transcripción aumentando la cantidad del producto génico. Esto ocurre por el mecanismo de acción de secuencias amplificadas virales "enhancer" que incrementa la utilización de promotores de transcripción, este mecanismo se observa en la eritroleucemia (104,114,115,117).

La amplificación génica se refiere a que en una neoplasia puede haber copias múltiples de un oncogen celular que se manifiestan con regiones cromosómicas de tinción homogénea (HSR) o como dobles minutos (DMN). En células neoplásicas que no presentan cambios cromosómicos la amplificación oncogénica ha sido observada, sólo por técnica de hibridación. El gen c-myc fué el primer proto-oncogen en que se observó amplificación. La presencia de múltiples copias de oncogenes en células neoplásicas ha sido asociada con un buen pronóstico (104,116).

Las mutaciones puntuales provocan cambios de bases, lo que puede originar una sustitución de un aminoácido por otro en la proteína producida. El gen c-Hras estudiado en líneas celulares de carcinoma presenta una mutación

TABLA VI. LOCALIZACION CROMOSOMICA DE ONCOGENES (31,104).

Cromosomas	Localización	Proto-oncogén
1	1p36	fgr
1	1p32	L-myc
1	1p11-13	N-ras
1	1q22-qter	sqi
1	1q32	trk
2	2p23-24	N-myc
2	2p11-12	rel
3	3p25	raf
5	5q34	fms
6	6p21	pin-1
6	6q21-22	ros
6	6q22-24	myb
6	6q24-27	mas
7	7p11-13	erb-B
7	7q31	met
8	8q22	mos
8	8q24	myc
9	9q34.1	abl
11	11p14.1	H-ras
11	11q13	int-2
11	11q23-24	ets-1
12	12p12.1	K-ras
12	12pter-q14	int-1
14	14q21-31	fos
15	15q25.1	fes
17	17p23	p53
17	17q12-22	neu
17	17q21-22	erb-A
18	18q21.3	yes
20	20q12-13	src
21	21q22	ets-2
22	22q11	bcr
22	22q13.1	sis

puntual (G-T) que provoca un cambio en un aminoácido, glicina por valina, en el 12avo codón de la proteína P21-ras alterando su función normal (104,115).

La activación de oncogenes por rearrreglos cromosómicos ha sido estudiada en el linfoma de Burkitt, la leucemia mielógena crónica (LGC) y algunos subtipos de LMA (104,114,118,119).

Sin embargo ninguno de estos mecanismos ha sido establecido como fundamental, habiéndose aceptado que para producir un tumor maligno deben ocurrir dos o más eventos. Para lo cual se han sugerido varios mecanismos: a) la activación de al menos un oncogen; b) la activación de varios oncogenes celulares o virales; c) la activación en cascada de varios oncogenes y d) alteraciones cooperantes de la célula como activación de un oncogen (103,115,116).

Cualquiera que sea el mecanismo específico que transforma un proto-oncogen en oncogen, ejerce su efecto a través de la proteína que determina. Estas proteínas se clasifican de acuerdo a su mecanismo de acción en cuatro grupos. 1) Con actividad asociada a tirosina-cinasa (los productos c-src, c-abl, c-yes, c-fgr, c-fes, c-fms, c-erb, c-neu, c-ros); 2) con propiedades de enlace GTP (la familia c-ras); 3) con homología de los factores de crecimiento o a sus receptores (c-sis, c-erbB) y 4) con localización nuclear (c-myc, c-myb, c-fos, c-ski, p53) (35,75,104,115).

3.5. SITIOS FRAGILES

Los sitios frágiles (SF) son puntos específicos en los cromosomas que están predispuestos a sufrir rupturas cuando los cromosomas son expuestos a determinadas condiciones de cultivo. Usualmente aparecen como un "gap" o una constricción implicando una o ambas cromátides de un cromosoma metafásico. Con menor frecuencia el sitio puede sufrir una ruptura completa produciendo un

fragmento acéntrico que puede perderse y en ocasiones duplicarse formando figuras trirradiales (120,121).

Los sitios frágiles existentes en el genoma humano se dividen en dos grandes categorías: Sitios Frágiles Raros o Heredables (SFR) y Sitios Frágiles Comunes o Constitutivos (SFC) (122).

3.5.1. SITIOS FRAGILES RAROS (SFR).

Los SFR son aquellos que se presentan con una frecuencia muy baja, >1% y generalmente, solo está afectado un homólogo del par cromosómico. Se han identificado 26 SFR heredables en los cromosomas humanos: 25 localizados en los autosomas y uno en el cromosoma X. Los SFR autosómicos no están asociados con anormalidades fenotípicas, pero el SFR del cromosoma X es un marcador que se asocia a retraso mental ligado al X (123).

Los SFR se dividen en tres grupos de acuerdo a su comportamiento, bajo condiciones de cultivo celular específicas. El primer grupo comprende a 20 SFR Folato-Sensitivos, los cuales son inducidos por medios de cultivos deficientes en ácido fólico (AF) y timidina o por los antagonistas del AF como el Metotrexate (MTX) o inhibiendo la actividad enzimática de la timidilato sintetasa con Fluorodesoxiuridina. Los 3 SFR del segundo grupo no son afectados por la concentración del AF en el medio, pero su expresión se ve aumentada por la Distamicina A. El tercer grupo comprende 2 SFR los cuales son inducidos por Bromodesoxiuridina o Bromodesoxicitidina. Solo un SFR, no ha sido clasificado aún (122,124,125).

3.5.2. SITIOS FRAGILES COMUNES O CONSTITUTIVOS

Los sitios frágiles comunes o constitutivos (SFC) parecen ocurrir muy frecuentemente en el hombre; pero su expresión se amplifica por la adición de

afidilcolina (un clastogénico), durante las últimas 6 horas de cultivo. Actualmente se han descubierto 86 SFC localizados en cromosomas homólogos en puntos específicos del genoma humano y de primates (123,125,126,127).

La mayoría de los SFC parecen encontrarse en la unión de las bandas Giemsa negativas. Puesto que previamente se había encontrado que la mayoría de los genes estructurales en el humano y primates se encuentran en las bandas Giemsa positivas, que son ricas en secuencias adenina-timina (A-T), es probable que la mayoría de los sitios frágiles representen una clase de secuencias ricas en timina, conservadas evolutivamente que son particularmente sensibles a la carencia de timina (126).

Se ha observado que los carcinógenos como la radiación gamma y diferentes tipos de mutágenos químicos como el bisulfán y la citarabina rompen los cromosomas en sitios frágiles. También, cuando las células son expuestas a Fdu, cafeína, afidilcolina u otros mutágenos y se les ha permitido que lleguen a una segunda división celular, se han encontrado algunas alteraciones cromosómicas específicas en cáncer. De esta forma parece que la ruta metabólica para la síntesis de pirimidinas representa un punto de convergencia donde algunos carcinógenos, oncogenes y algunos factores de dieta pueden interactuar (126).

El mecanismo exacto de formación de los sitios frágiles es desconocido, sin embargo se ha sugerido que se encuentra a nivel de síntesis de ADN y que estos pueden producirse por no acoplarse las regiones ricas en timina y, por lo tanto, no hay captación del DNA durante la mitosis en estas regiones. Además, los estudios de incorporación de uracilo, en ausencia de timina, sugieren que los sitios frágiles sean producto de un defecto en la metilación del ADN afectando sitios de incorporación o de unión de proteínas encargadas de la condensación. Por otra parte la incorporación de uracilo puede provocar

la formación de sitios apirimidicos que son sitios de acción de las endonucleasas responsables del proceso de reparación por excisión, produciendo de esta manera el sitio frágil. Otra hipótesis sugiere que los sitios frágiles se forman por modificaciones virales de la estructura del ADN, que afectan la condensación cromosómica (124,128).

3.5.3. SITIOS FRAGILES Y REARREGLOS CROMOSOMICOS EN LEUCEMIAS AGUDAS.

Se han publicado numeroso estudios que tratan de explicar el papel de los sitios frágiles en la patogénesis de los tumores humanos. Algunos de estos reportes sugieren que estos sitios aumentan la susceptibilidad a las rupturas y pueden servir como un factor predisponente a los rearreglos cromosómicos en neoplasias (126). Se ha encontrado una correlación entre los puntos de ruptura de diversos rearreglos cromosómicos en cáncer y la localización de sitios frágiles comunes o heredables. Hecht y Sutherland (1985) (129) encontraron una asociación significativa entre 21 sitios frágiles raros y 50 puntos de ruptura específicos en cáncer; Yunis y cols., (1986) (126) encontraron que 67% de los 86 SFC coinciden con puntos de ruptura específicos en cáncer y que 72% coinciden con la localización de oncogenes. Con estos estudios se fundamenta la hipótesis de que los sitios frágiles residen en una región única específica rica en timina, la cual puede inducir ciertos proto-oncogenes y genes activos de la diferenciación celular. Además esto puede representar sitios donde el ADN sería fácilmente desenrollado para efectuar una rápida transcripción y sería también susceptible de agresión por varios agentes carcinógenos. Debido a esto, los SF posiblemente tienen una función directa en la desregulación de un proto-oncogen, como en las translocaciones e inversiones específicas en

cánceres humanos. Alternativamente pueden servir como sitios de ruptura para deleciones o recombinaciones somáticas (126,129).

En el caso de una translocación o inversión, un SF puede ser parte o estar próximo a una secuencia reguladora de genes celulares específicos que transforman el proto-oncogen en oncogen activo. En el caso de una deleción, dos genes no oncogénicos pueden servir de base para la ruptura y reunión de segmentos cromosómicos con pérdida de una secuencia de intervención del ADN, que incluye una secuencia crítica (126). En la tabla VII se muestra la relación entre SF y rearrreglos cromosómicos en Leucemia Aguda.

Sin embargo a pesar de toda la evidencia que existe respecto a la asociación entre rearrreglos cromosómicos específicos, oncogenes y sitios frágiles se requieren más estudios para determinar si los sitios frágiles son un factor predisponente en algunos cánceres y para aclarar porqué algunos individuos y familias tienen una mayor incidencia de neoplasias. A este respecto los datos son controversiales(126,129).

4. REARRREGLOS CROMOSOMICOS DE LEUCEMIA AGUDA.

4.1 METODOLOGIA CITOGENETICA.

El estudio citogenético de las leucemias se realiza en un aspirado de médula ósea que se procesa directamente o se cultiva por 24-72 h. (35,130). En pacientes con un conteo de células blancas mayor de 15,000 con aproximadamente 10% de células mieloides inmaduras, también puede cultivarse una muestra de sangre periférica durante 48-72 horas sin adicionar fitohemaglutinina (PHA). El cariotipo de las células en división es similar al obtenido de la médula ósea (131).

La actividad mitótica natural de la médula ósea es utilizada para el estudio cromosómico directo. El análisis de estas células es representativo de

TABLA VII. RELACION ENTRE SITIOS FRAGILES Y REARREGLOS CROMOSOMICOS EN LEUCEMIA AGUDA (126,129).

Cromo soma	Sitio Frágil	Rearreglo	Enfermedad
1	p32	t(1;11)(p32;q23)	LLA-L1preB
	p36	t(1;3)(p36;q21)	LMA
	q21.3	t(1;19)(q23;p13.3)	LLA-L1preB
2	p13	t(2;8)(p12;q24)	LLA-L3
4	q21	t(4;11)(q21;q23)	LLA
6	q23	t(6;9)(p23;q34)	LMA-M2/M5
	q26	del(6)(q26)	LLA
		t(6;11)(q27;q23)	LMA-M5
7	P11	t(1;17)(p11;p11)	LMAs
	q22/q32	del(7)(q22-q36)	LMAs
8	q22	t(8;21)(q22;q22)	LMA-M2
	q24	t(8;14)(q24;q32)	LLA-L3
		t(8;22)(q24;q11)	LLA-L3
9	p21	t/del(9p)	LLA
		t(9;11)(p21-22;q23)	LMA-M5a
	q32	del(9)(q11-q32)	LMA
	q34	t(9;22)(q34;q11)	LLA/LMA
10	q25	t(10;14)(q24-25;q11)	LLA
11	p13	t(11;14)(p13;q11)	LLA
	q13	t(11;14)(q13;q32)	LLA
		t/del(11)(q13-14)	LMA-M4/M5
	q23	t(4;11)(q21;q23)	LLA
		t(11;14)(q23;q32)	LLA
		t(11;17)(q23;q25)	LMA
		t(11;19)(q23;p13)	LMA
12	p11-p13	t/del(12)(p11-13)	LMAs
	p12	t/del(12)(p12)	LLA
16	p13	t(8;16)(p11;p13)	LMA-M5
	q22	inv(16)(p13;q22)	LMA-M4
		t(16;16)(p13;q22)	LMA-M4
		del(16)(q22)	LMA-M4
17	q21	t(15;17)(q22;q21-22)	LMA M3/M3v

las poblaciones que se encuentran dividiendo in vivo en el momento que se hizo el aspirado, en tanto que en un cultivo, la división celular se efectúa in vitro (146). Por lo que ha surgido la duda acerca del origen leucémico o no de las células granulopoyéticas obtenidas mediante cultivo. Esta ha sido aclarada en gran parte, por varios autores, con la aplicación de cromosomas marcadores en clonas leucémicas (132,133).

Las alteraciones cromosómicas han servido como marcadores celulares en el estudio de la interrelación de las distintas poblaciones celulares leucémicas. Se han encontrado varias ventajas del cultivo de células sobre la técnica directa, independientemente de que sean o no estimuladas (15,149). En los cultivos hay un aumento en el número de metafases producidas a favor de las células cromosómicamente anormales con respecto a las células normales. Al parecer las células leucémicas propician una inhibición de las células normales o bien estas células con alteraciones cromosómicas están en ventaja proliferativa (45,134,135).

La morfología de los cromosomas se mejora con las preparaciones cultivadas lo que se manifiesta en el número de bandas obtenidas en los cultivos. Por lo tanto, es más probable obtener un resultado positivo en muestras cultivadas que en directas. La mayor ventaja del cultivo de médula ósea y sangre periférica es que se detectan líneas celulares con alteraciones cromosómicas, las cuales no son evidentes en muestras procesadas directamente. Sin embargo, presentan una desventaja y es la estimulación de clonas normales desarrolladas in vitro (45,134). Es claro que el resultado citogenético de un paciente difiere si se basa en muestras procesadas directamente o cultivadas, lo que se relaciona estrechamente con el pronóstico del paciente, siendo importante comparar las alteraciones cromosómicas encontradas por ambas técnicas en cada población (45,134).

Los cromosomas obtenidos por método directo o cultivo se identifican por medio de técnicas de tinción que producen patrones de bandas característicos a lo largo de los cromosomas. Las técnicas de bandeo se dividen en a) aquellas que dan bandas distribuidas a lo largo del cromosoma, tales como las bandas Q, G, R, incluyendo las que demuestran patrones de síntesis de ADN y b) aquellas que tienen un número restringido de bandas o estructuras específicas (bandas C, bandas T y bandas NOR). Las más usadas en las leucemias son las bandas G y Q que dan básicamente el mismo patrón (35,104,135).

Las bandas Q se producen en los cromosomas por medio de tratamientos con colorantes fluorescentes del tipo de mostaza de quinacrina y otros derivados de acridina. Tienen la desventaja de que las preparaciones deben ser observadas en un microscopio de fluorescencia y además ésta se pierde con el tiempo (136). La técnica para producir bandas G incluye el tratamiento de los cromosomas con una solución de tripsina y posteriormente tinción con Giemsa; de esta manera se pone de manifiesto la estructura cromosómica básica de los cromosomas en metafase, y las preparaciones son analizadas con un microscopio de luz convencional (137).

Bandas R o reversas son producidas por cromomicina y naranja de acridina, dan un patrón inverso de las bandas G/Q (138). Una variante de éstas son las bandas T que se utilizan para delinear la porción telomérica (extremos de los cromosomas) que sirven para poder identificar los puntos de ruptura de algunas translocaciones (139). Las bandas NOR se manifiestan en los cromosomas por el tratamiento dado con sales de plata (nitrato de plata) las que tiñen los tallos de los satélites de los cromosomas acrocéntricos que han participado activamente en la síntesis de proteínas (140).

La técnica de bandas C fue introducida por Sumner y cols. en 1977 (141) y son usadas para la identificación de heterocromatina constitutiva,

localizada en el centrómero de todos los cromosomas y en las regiones pericentroméricas de los cromosomas 1, 9, 16, los satélites citológicos de los cromosomas acrocéntricos y la porción distal del brazo largo del cromosoma Y (142,143).

La importancia de estas regiones en las leucemias radica en la asociación entre la heterocromatina y el cáncer (142). Parece ser que un incremento de este material facilita el intercambio de cromosomas por un entrecruzamiento desigual; produciendo homo u hemigocidad de genes importantes para el desarrollo de la neoplasia (143).

Las técnicas directas o las de cultivo de corto tiempo producen preparaciones con un índice mitótico bajo y cromosomas pobremente bandeados (150 a 320 bandas por grupo haploide). La aplicación de las nuevas técnicas de alta resolución y sincronización de células con metotrexate hacen posible obtener una mayor calidad en las preparaciones cromosómicas, ya que incrementan el índice mitótico y proveen de células con cromosomas más elongados (prometafásicos) que dan un mayor número de bandas (hasta 1,200 por grupo haploide) y con las que se pueden identificar alteraciones cromosómicas que antes no eran detectables, además de poder llegar a determinar sitios específicos donde se localizan oncogenes (35,142,143).

4.2. NOMENCLATURA.

Generalmente se utiliza la Nomenclatura de París para la descripción de cariotipos (144,145,146). Esta indica que en primer término se señala el número total de cromosomas, seguido por los cromosomas sexuales y después los rearrreglos de los autosomas. Las letras "p" y "q" se refieren a los brazos cortos y largos del cromosoma respectivamente. Un signo más (+) o un signo menos (-) antes de un número indica ganancia o pérdida de un cromosoma. Las

translocaciones son identificadas por la letra "t" seguida de los números correspondientes a los cromosomas implicados, en el primer paréntesis, en tanto las bandas del cromosoma en las que ocurrieron las rupturas son indicadas en un segundo paréntesis. Se indica brazo "p" o "q", número de región, banda y sub-banda. La incertidumbre con respecto al cromosoma o banda implicados se denomina por un signo de interrogación (?). Otras anomalías estructurales se designan con "i" isocromosoma, "r" anillo, "mar" marcador, "del" delección, "ins" inserción, "inv" inversión, "dup" duplicación, "der" derivado etc. (144,145,146,147).

La observación de al menos dos células "pseudodiploides" o "hiperdiploides", o de tres células "hipodiploides" con la misma alteración, pone de manifiesto la presencia de una clona anormal. Los pacientes cuyas células no muestran alteraciones o en quienes las alteraciones no son constantes son considerados normales. Los cambios aislados pueden deberse a artefactos técnicos o a errores mitóticos al azar (148).

Se han publicado muchos estudios sobre los cambios cromosómicos en las células cancerosas (13); el mayor problema de estos estudios es distinguir los eventos primarios de los secundarios. Esto es de gran importancia ya que a través de los cambios cromosómicos se puede diferenciar el crecimiento de las clonas tumorales (149).

Heim y Mitelman (1987) (150), sugieren que las alteraciones cromosómicas en desórdenes neoplásicos son de tres tipos: 1) anormalidades primarias que generalmente se encuentran como anormalidad única en cáncer y se asocian específicamente con un tipo de tumor en particular. Estas son el paso esencial en el establecimiento de neoplasias. 2) Anormalidades secundarias que nunca se encuentran como cambios únicos, con frecuencia son adicionales a las anormalidades primarias y son importantes en la progresión tumoral. 3) Ruido

citogenético constituido por cambios cromosómicos que son el último nivel de aberraciones no consecutivos, que no ejercen un papel trascendental en la progresión tumoral (13,149,150).

4.3. **ALTERACIONES CROMOSOMICAS DE LMA**

Los estudios citogenéticos realizados hasta 1980 en pacientes con LMA demostraron que el 50% de los pacientes presentaban alteraciones cromosómicas en las células leucémicas (44); con la introducción de nuevas técnicas de cultivo y de bandedo cromosómico este porcentaje ha aumentado. En la actualidad se considera que más de dos tercios (70-80%) de los pacientes con LMA tienen alteraciones cromosómicas al momento del diagnóstico (17,135).

En los Talleres de Cromosomas en Leucemia realizados en 1978 (151), 1980 (152) y 1984 (153), se estableció una correlación entre ciertas anomalías cromosómicas y la morfología de las células blásticas y/o el curso clínico de la LMA. Esta relación entre las características genéticas y morfológicas indican que ambos parámetros reflejan rearrreglos celulares fundamentales para la patogénesis y diferenciación celular (44).

En 55% de los casos de LMA, los rearrreglos cromosómicos encontrados, aparecen como una aberración primaria. Pero en 45% de los pacientes estas anomalías se acompañan de uno o más cambios secundarios. Dos sub-grupos del FAB, M3 y M6 tienen porcentajes diferentes a este respecto. En la M3 el 80% tienen un solo rearrreglo cromosómico y en la M6 solo el 25% tienen un cambio simple (13,153,154).

En la tabla VIII se presenta una lista de las anomalías cromosómicas primarias reconocidas en LMA.

4.3.1. ALTERACIONES NUMERICAS.

La pérdida o ganancia de cromosomas completos es frecuente en LMA como anomalía única al momento del diagnóstico y/o como alteración adicional en estados posteriores. Las hipodiploidías e hiperdiploidías masivas (menos de 45 y más de 50 cromosomas) son raras en LMA y en general se asocian con mal pronóstico (5 y 4 meses respectivamente). Ningún cambio numérico está asociado a un subtipo particular del FAB, el cual puede presentarse desde M1 hasta M7. El pronóstico de los pacientes depende de qué tipo de cromosomas están implicados, pero dichos cambios se consideran dentro del grupo de alto riesgo, excepto la trisomía 21 que se asocia a buen pronóstico. Estos rearrreglos se presentan en 12% de los pacientes con LMA. Los cromosomas que pueden estar implicados son: +4, -5, -7, +8, +21 e -Y y con menor frecuencia la trisomía 13. (13,154,156)

La alteración numérica más común es la trisomía 8. Se presenta en 7% de los casos con anomalías cromosómicas. Entre las anomalías múltiples solo se ha tomado en consideración la trisomía 8 (5% de los casos de +8). (13,44,153). Esta alteración es específica de desórdenes mieloides y es muy raro encontrarla en LLA. Los pacientes con +8 generalmente pasan por un estado preleucémico mielodisplásico previo a la LMA. Esta anomalía no está restringida a un sub-grupo del FAB en particular. Como cambio primario es más común en el M1 seguida del M4 y M5. Como anomalía secundaria es más frecuente en el M3, seguida del M1 y M2 (148).

La trisomía 8 ha sido encontrada en niños (157), sin embargo es más común en adultos. En el Taller de Cromosomas en Leucemia realizado en 1984 (153) se reportó que 43% de los pacientes con trisomía 8 entraron en remisión completa con duración de 8 meses, y tuvieron supervivencia de 6-9 meses (153,158,159). En tanto Rowley (156) observó en una población infantil, que

el 94% alcanzaron una remisión completa con una duración de 2 años. Es interesante observar como una misma anormalidad citogenética tiene diferente pronóstico, de acuerdo a la edad del paciente. Esta alteración se produce por no disyunción, lo que origina una sobredosis de genes que podría llevar a la expresión aumentada de oncogenes (148).

La monosomía 7 es la segunda alteración numérica con respecto a su frecuencia en LMA. Como anormalidad única se presenta en 4% de los casos, predominantemente en los subtipos M2 y M4. La pérdida del cromosoma entero es precedida por monosomía parcial (7q-) en la mayoría de los casos (153,158,159).

Los pacientes con monosomía 7 son más susceptibles a infecciones. Esto se atribuye a la presencia de neutrófilos con -7, que tienen defectos funcionales en los granulocitos, principalmente en la función quimiotáctica. Esta alteración numérica es más frecuente en adultos y en general es de mal pronóstico, con una sobrevida de 3 meses. Pocos pacientes (20%) logran entrar en remisión completa con la terapia (153,156).

La trisomía 4 ha sido recientemente descrita como un cambio primario en LMA. Hay muy pocos casos reportados pero la mayoría corresponden al subtipo M4 y se cree que el rearreglo neoplásico ocurre en una célula hematopoyética mieloide muy temprana. Debido a que se han encontrado líneas celulares en médula ósea con marcados factores dishematopoyéticos (160,161).

La pérdida del cromosoma Y en células de médula ósea es muy común en adultos mayores de 65 años. En la mayoría de los pacientes se ha considerado como un evento normal relacionado con la edad y sin significado patológico aparente (162,163). Sin embargo, la ausencia del Y ha sido reportada como una anormalidad neoplásica que desaparece en la remisión y aparece en la recaída. En algunas ocasiones se detecta como única anormalidad cromosómica en LMA,

otras veces se presenta como un cambio secundario particularmente en pacientes con LMA M2 y t(8;21) como rearrreglo primario (162,163).

De los cambios numéricos descritos, la trisomía 8 y la monosomía 7 son los únicos que se consideran como alteraciones primarias, en lo que se refiere a los otros +4, -5, +21, y -Y se discute si realmente pueden ocurrir como eventos primarios o siempre son secundarios a un rearrreglo estructural, algunas veces no detectado. El mecanismo por el cual los cambios numéricos contribuyen al proceso neoplásico, se desconoce, pero probablemente está relacionado con el "dosage" génico (13). La trisomía 7 está asociada a los subtipos M1 y M3 principalmente y ha sido reportada como anomalía única (159).

4.3.2. ALTERACIONES ESTRUCTURALES.

En LMA la identificación de clonas citogenéticamente anormales durante el diagnóstico inicial y evolución, ha permitido una correlación con el curso clínico de la enfermedad, su respuesta a la quimioterapia y la sobrevida (164). Los paciente que solo tienen metafases normales (NN) presentan un porcentaje más alto de remisión completa y mayor tiempo de vida, comparados con pacientes en quienes solamente se observan clonas anormales (AA). Los pacientes con una clona anormal y metafases normales (AN), presentan un curso clínico intermedio. Es probable que en pacientes con AA el factor desfavorable sea la pérdida de células citogenéticamente normales y no la presencia de células aneuploides. Se ha sugerido que las células citogenéticamente normales pueden representar células madre normales que son requeridas para repoblar la médula después de que las células leucémicas han sido destruidas por la quimioterapia (158).

**TABLA VIII. ANORMALIDADES CROMOSOMICAS ESTRUCTURALES
PRIMARIAS EN LMA (13).**

PUNTO DE RUPTURA	REARREGLO	CARAC. HEMATOLOGICAS
1p36	t(1;3)(p36;q21)	Dismegacariocitopoesis
1p11	t(1;7)(p11;p11)	LMAs principalmente M4
2p11	t(2;11)(p21;q23)	-----
3q21-25	t(3;5)(q21-26;q31-35)	Megacariocitos anormales
3q21 y	ins(3;3)(q26;q21-26)	y Trombocitosis
3q26	inv(3)(q21-q26)	
	t(3;3)(q21;q26)	
4	trisomía 4	M2 y M4
5	monosomía 5	LMA secundaria
5q	del(5q)	LMA secundaria
6p23	t(6;9)p23;q34)	M2 y M4 con basofilia
6q27	(6;11)(q27;q23)	M5 principalmente M5a
7	monosomía 7	LMA secundaria
7q	del(7q)	LMA secundaria
8	trisomía 8	LMA secundaria
8p11	t(8;16)(p11;p13)	M5 con fagocitosis
8q22	t(8;21)(q22;q22)	M2 con cuerpos de Auer y eosinofilia
9p21-22	t(9;11)(p21-p22;q23)	M5 principalmente M5a
9q	del(9q)	-----
9Q34	t(9;22)(q34;q11)	M1 y M2
10p14	t(10;11)(p14;q13-14)	M4 y M5
11q13-14	t/del(11)(q13-14)	M4 y M5
11q23	t/del(11)(q23)	M4 y M5 principalmente M5a
	t(11;17)(q23;q25)	-----
	t(11;19)(q23;p12)	-----
12p11-13	t/del(12)(p11-13)	LMA secundaria
15q22	t(15;17)(q22;q11-12)	M3 y M3v
16p13 y	inv(16)(p13;q22)	M4 con eosinofilia
16q22	t(16;16)(p13;q22)	"
	del(16)(q22)	"
20q	del(20q)	M6
21	trisomía 21	LMA secundaria
Y	-Y	M2 con t(8;21)

Las alteraciones cromosómicas en LMA generalmente están presentes al inicio del padecimiento y desaparecen cuando el paciente entra en remisión. Los mismos rearrreglos aparecen en la recaída, en algunas ocasiones con cambios cromosómicos adicionales a la clona anormal original. Se cree que la aparición de estos cambios secundarios y la inestabilidad cromosómica se incrementa con la edad (148,157).

Los rearrreglos estructurales más frecuentes corresponden a translocaciones que pueden presentarse como única anomalía o asociadas a defectos numéricos (148).

4.3.3. REARREGLOS CROMOSOMICOS PREDOMINANTES EN LMA.

4.3.3.1. $t(8;21)(q22;q22)$ en Leucemia Mieloblástica (LMA) con Maduración (M2).

En 1968 Kamada y cols (165) reconocieron un grupo de pacientes con LMA caracterizados por una translocación entre un cromosoma del grupo C y uno del G. Rowley (1973) (166) lo identificó con las técnicas de banda Q, como una translocación balanceada entre los cromosomas 8 y 21 $t(8;21)(q22;q22)$. La aberración se presenta solo en monocitos y células granulocíticas por lo que se correlaciona con el fenotipo M2 del FAB. Ocasionalmente se asocia con M1 o M4 (153,167,188). La $t(8;21)$ es más frecuente en pacientes jóvenes, es raro encontrarla en individuos mayores de 50 años. Este rearrreglo es predominante en la población infantil y con mayor frecuencia en el sexo masculino (157,169).

En la LMA, la presencia de clonas con anomalías estructurales es de mal pronóstico. Sin embargo, la $t(8;21)$ tiene un pronóstico intermedio. Un alto porcentaje de casos (76%) logra una remisión completa con la quimioterapia convencional con una duración de 10 meses. En general la sobrevida media es de trece meses. Sin embargo, cuando este rearrreglo se asocia con la pérdida de

cromosomas sexuales es de mal pronóstico y tiene una sobrevida de 5.5 meses (153,156,159,168).

Se han reportado translocaciones variantes a la estandar, algunas son complejas e implican tres cromosomas como la t(2;8;21). Otras aparentemente afectan uno u otro punto de ruptura (8q22;21q22). Los cambios cromosómicos adicionales se presentan en 75% de los casos. La pérdida de los cromosomas sexuales está frecuentemente asociada a esta anormalidad (72%). La pérdida del cromosoma X en las mujeres es menor que la pérdida del cromosoma Y en hombres. Sin embargo, la frecuencia de otras anormalidades adicionales es mayor en mujeres (50%) que en hombres (18%) (152,153,167).

En este rearreglo cromosómico se encuentran involucrados dos oncogenes c-mos (8q22) y c-ets-2 (21q22). Se ha observado que el proto-oncogen c-mos permanece en el derivado 8q- y recombina con c-ets-2 que es translocado al cromosoma 8. Por lo que se cree que c-ets-2 es el responsable de la patogénesis de la enfermedad, aunque todavía no se conoce el mecanismo exacto (170,171).

4.3.3.2. t(15;17) en Leucemia Promielocítica Aguda (M3).

Coulomby y cols (1976) (172) fueron los primeros en asociar una anormalidad cromosómica con este sub-grupo. La describieron como una delección parcial del cromosoma 17. La naturaleza exacta de la anormalidad fue determinada por Rowley y cols (1977) (173) quienes la identificaron como una translocación recíproca (15q+;17q-). Esta anomalía fue confirmada por numerosos grupos determinándose los puntos de ruptura t(15;17)(q22;q11) (174). Actualmente con la aplicación de técnicas de alta resolución se han logrado establecer las sub-bandas específicas de este rearreglo cromosómico t(15;17)(q22).q11.2) que es específico de M3 (175).

La incidencia de t(15;17) en las diferentes series de pacientes con M3 varía considerablemente, esto puede ser reflejo de las diferentes técnicas citogenéticas empleadas. Berger y cols (1983) (175) han sugerido que en preparaciones directas la división celular implica principalmente eritroblastos en tanto que en los cultivos son mieloblastos. La alta frecuencia de este rearrreglo después de un cultivo de corto tiempo es indicativa de que la translocación está presente en células mieloides pero no en células eritroides, por ello es que se prefieren los cultivos en M3 (175).

En el segundo Taller de Cromosomas en Leucemia (152), 41% de los pacientes con M3 (80 casos) presentaban la t(15;17) sola o combinada con otras alteraciones. De estas 26% entraron en remisión completa y tuvieron una sobrevida de un mes. En contraste, de los 50 pacientes con cariotipo normal, 45% lograron una remisión completa y tuvieron una sobrevida de 4 meses.

Tres años después en el Cuarto Taller (153), se encontró que 70% de los pacientes con M3 presentan la translocación. De éstos 42% entraron en remisión completa con duración de 10 meses y una sobrevida de 13 meses. En 1984 Larson y cols (176) encontraron el rearrreglo en el 100% de sus pacientes con LPA independientemente del subtipo M3. El grupo MIC reporta (44) que 90% de los casos de M3 o M3v presentan la translocación. En ambos casos el pronóstico de los pacientes es pobre, con una sobrevida de 2-4 meses (44,176).

Las traslocaciones variantes son raras, en M3 solo se han reportado 15 casos con rearrreglos entre 17q y los cromosomas 2 y 3 principalmente. En esos pacientes se observaron características hematológicas indistinguibles de la LPA asociada a t(15;17). Estas variantes indican que el punto de ruptura en 17q es el evento más importante en el rearrreglo. Los cambios cromosómicos adicionales, se presentan en 1/3 de los pacientes predominando la trisomía 8 (44,153).

El mecanismo molecular propuesto para este rearreglo muestra que existen sitios frágiles en 17q. El oncogen implicado es c-erb-a (17q21-22) que no se transloca al cromosoma 15 sino que permanece en el derivado 17q- cerca de un sitio frágil 17q21 (177,178).

4.3.3.3. Rearreglos Estructurales del Cromosoma 16 en Leucemia Mielomonocítica Aguda (M4) con Eosinofilia de Médula Osea.

En 1983 Arthur y Bloomfield (179) reportaron la asociación entre cambios estructurales del cromosoma 16q y eosinofilia en médula ósea. Ellos describieron cinco casos (3 con M2 y 2 con M4) cuyos eosinófilos de médula ósea se encontraban significativamente aumentados (8-54%). Todos los pacientes presentaron una delección del brazo largo del cromosoma 16 [del (16)(q22)]. Le Beau y cols (1983) (180) confirmaron estos datos y asociaron los rearreglos 16q con la presencia de eosinófilos anormales. En su reporte 18 pacientes con diferenciación mielomonocítica (M4) y eosinofilia presentaron una inversión pericéntrica del cromosoma 16 [inv(16)(p13;q22)].

En el Cuarto Taller de Cromosomas en Leucemia (153) fue confirmada la correlación entre los rearreglos estructurales del cromosoma 16 y los eosinófilos anormales, al encontrarlos en 40% de los pacientes con M4 con más de 5% de eosinófilos. A partir de entonces surge un subgrupo específico de LMA ya que el punto de ruptura es el mismo en las delecciones e inversiones (16q22). Esto sugiere la existencia de un punto crítico en los rearreglos del cromosoma 16 (179,180).

Por hibridación in situ fluorescente (FISH) se ha demostrado que los puntos de ruptura en la inv(16) ocurre en 16p13 y 16q22 siendo el rearreglo más común asociado a M4. Constituye 5% de todos los casos de LMA citogenéticamente anormales. Se consideran anomalías variantes la

del(16)(q22), la t(16;16)(p13;q22) y las translocaciones entre 16q22 y otros cromosomas. Solo se ha reportado trisomía 8 como cambio cromosómico adicional (153,182,183,184).

La asociación morfo-citogenética para LMA-M4 del FAB ha permitido crear un nuevo sub-grupo: LMA-M4E0/inv16, que tiene una incidencia de 20% en los casos de M4 (44,185). Este sub-tipo presenta factores morfológicos específicos, tales como un aumento de eosinófilos inmaduros con granulaciones citoplásmicas más grandes, más numerosas y más irregulares que en los eosinófilos inmaduros anormales. La morfología anormal de los eosinófilos se confirma en las reacciones citoquímicas PAS y esterasa y por microscopía electrónica (179,186).

Testa y cols. (187) sugieren que la transformación maligna puede ocurrir en una célula madre multipotencial capaz de diferenciar hasta las líneas neutrofilicas, monocíticas y eosinofilicas. Por lo que es lógico el hallazgo de inv(16) en leucemias tipo M2, M4 Y M5b y probablemente esto también explique la eosinofilia.

Los pacientes con alteraciones estructurales del cromosoma 16 tienen una buena respuesta a la terapia, remisión completa en un alto porcentaje y una sobrevida larga (26-35 meses). Sin embargo se ha visto que estos pacientes tienen una infiltración en el sistema nervioso central que les produce un tumor intracraneal lo que empeora su pronóstico (44).

Los estudios moleculares con técnicas de hibridación in situ mostraron que la familia de genes para la metalotionina (MT) se localizan en 16q22. La función de dichos genes es proveer a las células de Zn⁺ en cantidades específicas, según sea la diferenciación hacia la línea granulocítica o monocítica, ya que los eosinófilos y granulocitos maduros tienen un alto contenido de Zn⁺. Se ha observado que cualquiera que sea el rearreglo en

16q22, interfiere con las funciones normales de los genes para la MT desarrollando el proceso leucémico (188).

4.3.3.4. t(6;9)(q23;q34) y Basofilia en Médula Osea.

Varios autores describieron simultáneamente una t(6;9) en pacientes con LMA relacionada con un aumento en el número de basófilos en médula ósea (>71%). En otro estudio realizado con 20 pacientes, 19 presentaban la t(6;9) y en uno más tenía una translocación compleja (6;6;9;) que fue considerada como una variante. La incidencia de basofilia en esos pacientes fue de 2% por lo que no se considera una asociación absoluta entre la basofilia y el rearreglo cromosómico (189,190,191,192). Existen otras aberraciones cromosómicas en LMA que también han sido asociadas con basofilia, tal es el caso de las alteraciones estructurales que implican del(12p) (193).

La t(6;9) no está limitada a un sub-grupo del FAB en particular, pero preferencialmente se presenta en M2 y en menor proporción en M4 y M1. Este rearreglo se presentó en pacientes jóvenes de 26-38 años que no tienen una buena respuesta al tratamiento, por lo que su pronóstico es malo (sobrevida 8-10 meses). Aproximadamente 20% de los pacientes pasan por una fase mielodisplásica previa al desarrollo de la leucemia (191,192).

En los reportes de LMA con t(6;9) el punto de ruptura en el cromosoma 9 está en q34. El punto de ruptura en el cromosoma 6 ha sido más difícil de establecer y se han sugerido las bandas p21, p22 y p23 siendo esta última la más común (190,191,192). En 1986 Heim y cols. (193) con la aplicación de técnicas de alta resolución determinaron que el punto de ruptura en 6p está próximo a 6p24.1 (en la parte distal de 6q23). Así también en el cromosoma 9 determinaron la ruptura en la sub-banda 9q34.3.

Se ha mapeado el oncogen *pim-1* en el brazo corto del cromosoma 6(p21) (218), dicho oncogen humano es el homólogo del oncogen murino frecuentemente activado en linfomas de células-T. La proximidad del punto de ruptura de la t(6;9) con este oncogen indica que es probable que se transloque a 9q34 provocando una alteración molecular (194).

4.3.3.5. Rearreglos en 3q y Trombocitopenia Anormal.

La presencia de trombocitosis y eventos anormales de plaquetas en pacientes con LMA es poco común. Sin embargo, ha surgido un sub-grupo citogenético que tiene alteraciones estructurales en 3q asociado con estos parámetros (44).

Berstein y cols. en 1982 (195) reportaron una inversión paracéntrica del brazo largo del cromosoma 3[inv(3)(q21-26)] en pacientes con LMA que presentaban anomalías megacariocíticas y de plaquetas. Sweet y cols (196) reportaron un paciente con megacariocitopenia anormal y t(3;3)(q21;q26). Posteriormente otros reportes han confirmado la asociación entre la inv(3)(q21;q26) y/o t(3;3)(q21;q26) con neoplasias mieloides y producción anormal de plaquetas (197). También se han reportado otros rearrreglos que implican 3q como una ins(3;3)(q26;q21;q26) que posteriormente se han reinterpretado como t(3;5) y t(3;3) respectivamente (196,198).

Con el empleo de técnicas moleculares se ha observado que el mecanismo implicado en la inv(3) y t(3;3) se encuentra relacionado con la presencia de genes en o alrededor de los puntos de ruptura en 3q21 y 3q26. En estos sitios se localizan los genes que codifican para la transferrina y para su receptor, respectivamente (199). Se ha observado que los pacientes con estos rearrreglos presentan niveles elevados de trombopoietina. Por lo que se postuló que el gen que activa su producción se encuentra en 3q. Los altos niveles de

trombopoyetina (TSF) pueden ser causados por dos mecanismos: 1) que las plaquetas pierdan su capacidad de reconocer el sistema de síntesis de TSF, ocasionando un control negativo de la producción, y 2) que las células leucémicas puedan sintetizar TSF pero que esté alterada su regulación por un mecanismo autocrino. Sin embargo no se ha podido comprobar que alguno de estos mecanismos sea el causante del proceso leucémico (200).

4.3.3.6 Leucemia Monoblástica Aguda con Rearreglos Estructurales en 11q.

Las alteraciones estructurales en 11q son relativamente comunes en la Leucemia Monocítica Aguda M5, sobre todo en el tipo "a" o leucemia monoblástica aguda, la cual es más frecuente en niños que en adultos. La incidencia de M5 tipo "b" o leucemia monocítica bien diferenciada es baja en niños y prácticamente nula en adultos (148). Las aberraciones en 11q son principalmente translocaciones con diferentes cromosomas, sin embargo también se han reportado algunas deleciones. El punto de ruptura principalmente es 11q23-24 aunque puede presentarse en 11q13-14 (153).

De los rearreglos en M5 que implican 11q, el más estudiado por la cantidad de casos reportados, es la t(9;11) (214,227). La frecuencia actual del rearreglo es incierta pero se supone del 1% en los casos de LMA citogenéticamente anormales (201).

Existe controversia en cuanto a los puntos de ruptura del cromosoma, debido a que algunos autores, manejan 11q23-q24 y otros 11q14. El punto de ruptura se asocia con la edad de los pacientes, así una ruptura muy distal es más frecuente en pacientes jóvenes. Esto sugiere que la expresión de los genes localizados en estas regiones son dependientes de la edad. El pronóstico en estos pacientes es variable y depende de qué cromosomas están relacionados con el rearreglo. Se consideran de alto riesgo los que presentan t(9;11)(p21;q23),

t(11;17)(q23;q21-25) y t(10;11)(p11-p13;q23) ya que no entran en remisión con la terapia convencional y tienen una sobrevida de un mes en adultos. Otros rearrreglos de 11q, como la t(2;11)(p21;q23) y la t(4;11)(q21;q23), se asocian con un pronóstico intermedio, la mayoría de los pacientes entran en remisión completa en corto tiempo y tienen una sobrevida promedio de 9 meses (201,202,203).

Molecularmente se desconoce como se encuentra implicado el cromosoma 11q en el mecanismo leucemogénico. Se ha observado que la mayoría de los rearrreglos en 11q implican la banda q23 por lo que se ha sugerido la existencia de genes importantes para la diferenciación mielomonocítica en esa zona. En esta banda se mapeó el oncogen c-ets-1, el cual en pacientes con M5 y t(1;11) es translocado al derivado del 1. En la t(9;11) este oncogen se transloca a 9p22 en una posición adyacente a los genes que codifican para el interferón. Se ha sugerido que la yuxtaposición de estas secuencias es importante para la patógenesis de la M5 (204,205). Recientemente con el uso de marcadores CD3D y CD3G se identificó la banda q23 involucrada en el cromosoma 11 implicada en la t(11;19), t(4;11) y t(9;11). También describieron que la relación de la transcripción está regulada en la línea celular RS4;11, a la cual se le denominó MLL (Mieloide/Linfoide o mezcla de líneas). (206).

4.3.3.7. Otros Rearreglos Estructurales Primarios en LMA.

Se han observado una serie de rearrreglos en LMA que no son consistentes ni específicos. Se han reportado pocos casos, por lo que su caracterización clínica y biológica no está bien definida. Entre estos rearrreglos esta la t(1;7) esta anomalía se asocia principalmente con morfología M4 y frecuentemente se presenta acompañada por otros rearrreglos como monosomía parcial o total de los cromosomas 5, 7 y 12 (207).

La delección del brazo largo del cromosoma 20 (20q-) es un evento raro en LMA. Sólo se han reportado 20 casos con este rearrreglo, de los cuales 10 fueron diagnosticados como eritroleucemia (M6) (13).

La del(9q) e i(17q) son cambios estructurales que solo ocasionalmente han sido reportadas como anomalía primaria en LMA, sin que se presente predilección por un sub-tipo determinado (13).

El cromosoma Ph' como único rearrreglo cromosómico se presenta en 3% de todos los pacientes con LMA, citogenéticamente es indistinguible de la t(9;22)(q34;q11) específica de LGC. Esta translocación no se restringe a un sub-tipo de LMA, sin embargo 85% de los casos con Ph' se han clasificado como M1 o M2 (208,209).

La t(8;16)(p11;p13) se ha encontrado en pacientes con morfología M5. Estos pacientes y los reportados con anterioridad eran en su mayoría niños o adolescentes con una eritrofagocitosis muy activa en las células leucémicas. De acuerdo con estas características se clasificó este rearrreglo como específico de M5b y eritrofagocitosis (210).

La presencia de cromosomas en anillo es raro en LMA, sin embargo, han sido reportados preferentemente en M4 asociados con mal pronóstico, con una sobrevida de 5-6 meses. Los casos reportados presentaron cromosomas del grupo A en anillo (211).

4.3.3.8. Leucemias Mieloblásticas Agudas Como una Enfermedad Secundaria.

Los pacientes que han recibido radiación terapéutica y/o quimioterapia debido a una enfermedad maligna o trasplante de órganos, tienen un riesgo mayor de desarrollar LMA secundaria (LMAs). Esto ocurre en el 1-2% de estos pacientes quienes desarrollan LMA, 3-5 años después del tratamiento. A menudo es precedida por un cuadro de mielodisplasia o preleucemia. Tienen una

sobrevida de 6 meses una vez que se ha diagnosticado la leucemia. Esto es particularmente cierto en pacientes con monosomía parcial o total 5 o 7 y trisomía 8 (212).

El estudio citogenético sirve como indicador de remisión completa. Los pacientes que desarrollan LMAs muestran una anormalidad cromosómica clonal detectada en 89-95% de los casos con las técnicas comunes y en 100% con técnica de alta resolución. Estas leucemias secundarias no pueden clasificarse por el sistema del FAB (212).

4.4. REARREGLOS EN LEUCEMIAS LINFOBLASTICA AGUDA.

Los estudios citogenéticos en leucemias linfoblásticas agudas (LLA) no ha sido tan amplio como en LMA. Con las técnicas empleadas se encuentran defectos cromosómicos bien definidos. Con el perfeccionamiento de las técnicas de médula ósea se ha permitido demostrar un defecto cromosómico en 94% de los casos de LLA. Del análisis de estos resultados, la mayoría de los pacientes con LLA tienen anormalidades cromosómicas en sus células leucémicas de médula ósea al momento del diagnóstico (213).

4.4.1. ALTERACIONES NUMERICAS.

Se ha demostrado que los cambios cromosómicos numéricos (ploidia) influyen significativamente en el diagnóstico, clasificación y como guía para establecer el pronóstico en pacientes con LLA.

4.4.1.1. HIPERDIPLOIDIA.

De los casos reportados en la literatura más del 30% tienen hiperdiploidia (20%), un número de cromosomas entre 47-50 y 12% tienen más de 50 cromosomas.

Las principales alteraciones de LLA de tipo numérico son: las hiperdiploidías, estas variaciones numéricas se restringen a leucemias con morfología L1 o L2. Las L2 tienen sólo moderada hiperdiploidia y en el sub-grupo L1 20% de los casos tienen marcada hiperdiploidia con más de 50 cromosomas. Los cromosomas observados con más frecuencia son 4, 6, 10, 14, 17, 18 y 21 (148,214,215,216). Los pacientes con más de 50 cromosomas tienen un pronóstico favorable, mientras que los pacientes con 47-49 cromosomas tienen un pronóstico intermedio (215,216).

Los parámetros clínicos son característicos del sub-grupo de LLA con hiperdiploidia. Se presenta en la población masculina con una edad aproximada de 5 años (2-10 años). Se presentan pocos leucocitos y bajos niveles de deshidrogenasa láctica. En varios estudios realizados por diferentes investigadores se ha podido demostrar que los pacientes que presentan hiperdiploidia (más de 50 cromosomas), tienen excelente pronóstico, y una remisión completa durante más tiempo (mayor de 40 meses), así como una sobrevida mayor después de la quimioterapia (más de 36 meses en niños y más de 21 en adultos) (215,216,217).

La detección de la hiperdiploidia debe hacerse por medio del contenido celular de ADN (citometría de flujo) en cualquier etapa de la proliferación celular. Esto ha permitido relacionar la cantidad de ADN con los sub-tipos morfológicos-inmunológicos de leucemia (218).

4.4.1.2. HIPODIPLOIDIAS Y CASI HAPLOIDIAS.

Otras alteraciones de tipo numérico son las hipodiploidías que se presentan muy esporádicamente ya que solo afectan de 3-10% de los pacientes y su significado pronóstico no es bien conocido. Se relaciona con los sub-tipos morfológicos L1 y L2 siendo más frecuente en este último con inmunofenotipo de

LLA común. La hipodiploidía se presenta frecuentemente en niños de 2-10 años; con niveles de deshidrogenasa altos, frecuentemente acompañada de rearrreglos cromosómicos estructurales posteriores (151,213).

La leucemia con número cromosómico casi haploide es muy poco común; ya que solo han sido reportados pocos casos en la literatura (162). Este subgrupo presenta un número modal de cromosomas entre 26-28 y frecuentemente hay cromosomas adicionales a la haploidía (21, 10, 14, 18, y y/o 16) (218,219,220).

La LLA casi haploide se asocia con un inmunofenotipo de LLAc (No-T; No-B) y morfología L1 o L2. La supervivencia de estos pacientes es de un año (entre 6 y 9 meses) y actualmente se considera de mal pronóstico por dar poca respuesta a la quimioterapia (219,220,221,222).

Como evento primario se da la ganancia o pérdida de cromosomas produciéndose monosomía o trisomía. El Taller Internacional de Leucemias (151) observó (en 330 casos) que la trisomía 21 (14.8%) fue la más frecuente, seguida de +6, +8 y +18. Por otra parte las monosomías fueron -7 y -20. Recientemente se ha reportado trisomía 5 como única anomalía en LLA de leucemias-B (223). Mitelman (224) reportó que en la mayoría de los casos de LLA la trisomía 21 se encuentra asociada con otro rearrreglo citogenético (numérico y/o estructural), y solo se ha reportado como única anomalía en 0.4% de los casos.

4.4.2. ALTERACIONES ESTRUCTURALES.

La pseudodiploidía es la anomalía estructural más frecuente (69%) dentro de este grupo. Se han encontrado diferentes alteraciones estructurales como eventos primarios en LLA. Algunas de ellas tienen importancia clínica particular ya que se asocian específicamente con un inmunofenotipo y proveen

Faltan páginas

N° 69 - 70

sido mapeado en 1q23. Al igual que la secuencia del gen para el receptor de insulina ha sido mapeado en 19p13. Existe la posibilidad de que un rearreglo entre estos loci sea el evento patogenético relacionado con la LLA y la t(1;19), pero no existen aún evidencias experimentales que apoyen esta especulación (229).

4.4.3.2. t(4;11)(q22;q23).

Este rearreglo fué observado por Oshimura en 1977 y posteriormente Van Den Berghe lo describió como una anormalidad consistente en LLA (1979) (230). Esta translocación ha sido observada en personas de todas las edades siendo más frecuente en niños (generalmente del sexo femenino) menores de un año y neonatos (con frecuencia congénita) (148,231).

Los pacientes presentan clínicamente una marcada leucocitosis, alto contenido de blastos en sangre periférica, hepatoesplenomegalia y/o linfadenopatía. Generalmente no responden al tratamiento convencional para LLA y sólo 69% tienen una remisión completa de muy poca duración (menos de 4 meses). La sobrevivencia es de 7 meses cuando se presenta como anormalidad única; pero cuando se asocia a otros rearreglos (translocaciones e hiperdiploidias con más de 50 cromosomas) el pronóstico es mejor (230,231,232,233,234).

La caracterización y el origen de las células leucémicas con t(4;11) han sido muy discutidas. Las células linfoides tienen morfología L1 o L2 y sólo han sido reportados muy diversos casos de L3 (165,265). En estudios de células leucémicas con t(4;11) presentan factores de la línea mieloide y linfoide. Esto sugiere un origen mielomonocítico muy temprano de las células blásticas (234,235). Sin embargo los resultados del fenotipo inmunológico reporta rearreglos en los locis de cadenas pesadas Ig en las células blásticas marcando una diferenciación hacia células B (136,237). Estos resultados son

contradictorios e indican que este sub-tipo de leucemia es capaz de tener una diferenciación bifenotípica o mixta, expresando al mismo tiempo células linfoides tempranas. Esta leucemia mixta puede originarse hacia ambas líneas o bien que la expresión del gen translocado produzca el fenotipo ambiguo ocasionando una diferenciación secundaria (232,238,239).

La $t(4;11)(q21;q23)$, se ha asociado con el oncogen celular c-ets-1 localizado en 11q23, y que es translocado al cromosoma 4q21 (240). En 11q23 se encuentra un sitio frágil raro (SFR 1,1A). Esto confirma la hipótesis de que los oncogenes se localizan en o cerca de los sitio frágiles hipersensibles, donde los carcinógenos pueden actuar originando rupturas cromosómicas que ocasionan transformación maligna (232,241).

4.4.3.3. $t(9;22)(q34;q11)$.

En 1970 se describió por primera vez la presencia del cromosoma Filadelfia (Ph') en médula ósea de pacientes con LLA (242). Al analizar cromosomas leucémicos bandeados se observó que el cromosoma Ph' en leucemias agudas era morfológicamente indistinguible de la $t(9;22)(q34;q11)$ específica de LGC. A partir de aquí, surge la interrogante si la LLA Ph+ representa una leucemia aguda de novo o es un estado blástico de LGC no diagnosticado previamente. Ambos padecimientos tienen características clínicas compartidas y alteraciones citogenéticas similares tales como un segundo cromosoma Ph', trisomía 8 y monosomía total o parcial del 7 (243,244).

Sin embargo se han reportado algunas diferencias entre estas entidades, las que a continuación se enumeran:

1) Citogenéticamente hay otros rearrreglos secundarios como del(10q), $t(1;14)$, +4, -20, +19, inv(3) que han sido reportados tanto en pacientes con leucemias

Ph+ como Ph- y que están ausentes o no se han reportado en las crisis blásticas de LGC, ni en las LMA Ph+ (244).

2) En la crisis blástica de LGC el cromosoma Ph' está presente prácticamente en todas las líneas celulares; en cambio en las LLA Ph+ se ha visto que está ausente en colonias linfoblásticas como las eritroides y mononucleares entre otras (245).

3) La existencia de células cromosómicas normales con células anormales en cualquier fase de la enfermedad, se manifiesta como factor exclusivo de LLA Ph+ (246).

4) En las LGC se presentan translocaciones variantes del cromosoma Ph' que pueden implicar tres o más cromosomas. En estos rearrreglos frecuentemente participa un segmento de 22q que es translocado a otro cromosoma diferente al 9 principalmente al 2. En la mayoría de estos rearrreglos citogenéticamente no parece participar el cromosoma 9, pero, molecularmente sí se detecta su presencia en este rearrreglo (246).

5) Hay casos de LGC en los que el Ph' no se reconoce en los intercambios complejos, que corresponderían a un Ph' enmascarado, pero por técnicas moleculares se ve que sí está implicado el cromosoma 22. Esto no se presenta en LLA Ph+ (247).

6) La LLA Ph+ es muy común en adultos, con una incidencia de 15-20% y de 5% en niños (227,232). Se caracteriza por una proliferación extrema y rápida de crecimiento de blastos que presentan diferenciación hacia la línea B y muy ocasionalmente exhiben factores de línea T. El inmunofenotipo de los blastos es compatible con células B- inmaduras por ejemplo, de LLA de precursores-B, LLAc o LLA-preB, esto no se observa en LGC (2243,245,248).

7) Se han observado grandes granulaciones, rosadas en el citoplasma de los blastos de médula ósea de pacientes con LLA Ph+ que son útiles como un auxiliar morfológico para distinguirlas de las LLA Ph- y de LGC (249).

8) Los pacientes con LLA Ph+ responden pobremente a la terapia, y sólo 54% alcanzan la remisión completa (duración de 8-12 meses). Por lo cual se deben practicar terapias alternativas, como el trasplante de médula ósea durante la primera remisión. Aún con todo esto la sobrevida de estos pacientes es corta, 12 meses (250,251).

Con el uso de las técnicas de biología molecular se han mapeado tres oncogenes implicados en la t(9;22). El proto-oncogen *abl* (9q34.1), el proto-oncogen *bcr* (22q11) y el oncogen *sis* (22q12.3-13.1). El proto-oncogen *sis* ha sido relacionado con el gen que codifica para la cadena beta de un derivado del factor de crecimiento plaquetario, una proteína que estimula la síntesis de fibroblastos. Los dos oncogenes se intercambian recíprocamente en la t(9;22), pero el oncogen *sis* no participa activamente en el rearreglo en tanto que el gen *c-abl* tiene una participación activa (252,253).

Los estudios moleculares realizados en los oncogenes *bcr* y *abl* indican que en aproximadamente 50% de los adultos con LLA Ph+ se encuentra el oncogen *bcr* en el punto de ruptura que cae en los 6 exones intermedios denominados región mayor *bcr* (*mbcr*) de igual manera que en la LGC. Y que en el otro 50% de los pacientes adultos y generalmente en todos los infantes se presenta el punto de ruptura fuera de la región donde se localiza el oncogen *bcr*. Recientemente se ha observado que la relación de la proteína de *abl* (p190) deriva de 7kb híbridas de *bcr/abl* ARNm donde se encuentra disminuida la información codificada por *bcr*, pero la información codificada por *abl* esta completa. El rompimiento en *bcl* fue localizado en el primer intrón, resultado del primer exón de *bcr* con el segundo exón de *abl*. Pero tanto la proteína p190

(proteína que codifica abl) como la p210 (proteína que codifica bcr) son encontradas en Ph+ de una leucemia aguda (254,255).

Los mecanismos que originan la t(9;22) no es muy clara. Existen dos hipótesis que podrían explicar la naturaleza de esta translocación. La primera supone que la translocación se da como resultado de un error en el mantenimiento de la reparación del material genético. La selección somática de un rearrreglo en particular como la t(9;22), podría ocurrir debido a su potencial de malignización. Alternativamente o adicionalmente, esto podría ser por un efecto "hot-pot" debido alguna característica de una secuencia parecida a bcr y abl quienes promueven frecuentemente la ruptura y la unión (253).

La segunda hipótesis sugiere que estos rearrreglos son generados por un error en los mecanismos de recombinación somática que operan sobre los genes de inmunoglobulinas y los loci para las cadenas del receptor de células-T. Estos errores ocasionalmente producen recombinaciones que implican un segundo locus y citogenéticamente se resuelven como una translocación (253,255).

4.4.3.4. t(8;14)(q24;q32), t(8;22)(q24;q11) y t(2;8)(p12;q24)

Dichas translocaciones se han asociado con neoplasias de célula-B, tanto leucemias como linfomas. Debido a que se detectaron inicialmente en linfomas de Burkitt, africanos o no, Epstein-Barr positivos o negativos, se propone que el linfoma de Burkitt y la mayoría de las leucemias de células-B (tipo L3) corresponden a diferentes manifestaciones de la misma enfermedad (18,20,126).

La t(8;14) se presenta en 75-85% de los casos y el resto presenta una translocación variante que implica a la banda 8q24 y puede ser t(8;22)(q24;q11) o t(2;8)(p12;q24) (13,126), sin embargo, se han reportado cambios cromosómicos adicionales a estas translocaciones en 70% de los casos. Los rearrreglos estructurales en el cromosoma 1 constituyen las anomalías

secundarias más frecuentes, en particular la trisomía parcial 1q presente en 30% de los pacientes (18,20,126).

El mecanismo leucemogénico es el movimiento del oncogen c-myc localizado en la parte distal del cromosoma 8(8q24), que es translocado a los cromosomas 14, 2 o 22. Esto produce un rearreglo entre c-myc y los loci de cadenas pesadas de Ig en 14q32, de cadenas ligeras kappa en 2p12 o lambda en 22q11 (10,32,126,256).

El oncogen c-myc tiene tres exones interrumpidos por dos intrones. El primero en el extremo 5' tiene un codón de terminación por lo cual no se traduce a proteínas. Los otros dos exones se transcriben a ARNm y se traducen a una proteína con propiedades de unión a ADN (13,31,120). En la t(8;14) el punto de ruptura en 8q24 ocurre siempre en el extremo 5' proximal al segundo exón de c-myc, esto ocasiona que la región codificante de c-myc se transloque al cromosoma 14q32(13,120).

El punto de ruptura en 14q32 ocurre en los loci de cadenas pesadas de Ig, en la mayoría de los casos en el segmento que codifica para la región constante (C). En las translocaciones variantes el rearreglo ocurre en los loci de cadenas kappa o lambda de Ig. En ambas translocaciones el gen c-myc permanece en el cromosoma 8 y se le une la secuencia que codifica la producción de anticuerpos. Cualquiera de estos dos rearreglos puede activar el oncogen haciéndolo insensible a los mecanismos que normalmente controlan su expresión. Esto indica que el c-myc pierde la regulación como resultado de su proximidad a genes que codifican anticuerpos, porque tales regiones cromosómicas contienen un tipo de secuencia genética "potenciadora" que incrementa los niveles de transcripción de los genes adyacentes (13,31,120,254).

4.4.3.5. del(6q).

La delección del brazo largo del cromosoma 6[del(6q)] es un cambio cromosómico relativamente común en LLA, apareciendo en 5-10% de los casos como anomalía clonal (214,257). Dicha alteración también se ha observado en 25% de los linfomas no- Hodgkin's y desórdenes linfoproliferativos crónicos, pero nunca se han encontrado en LMA (221).

La del(6q) en LLA predomina en niños y adolescentes asociándose morfológicamente L2 e inmunofenotipo de células-B, solo ocasionalmente se presenta en L3 y algunos casos de LLA en la línea T. En la mayoría de los casos se trata del subgrupo de LLAc (13,228). El pronóstico de este sub-tipo es bueno, ya que tiene una supervivencia de 29 meses, 75% de los casos entra en remisión completa y permanecen en ella aproximadamente 25 meses (214,257,259).

Los puntos de ruptura varían considerablemente no conociéndose si es intersticial o terminal. Por analogía con la delección adquirida (6q) en neoplasias mieloides, se han tratado de aclarar los puntos de ruptura y en la mayoría se han localizado en 6q15 y 6q21-25 (120,239,260,261).

Por técnicas de hibridación in situ se ha determinado que el locus c-myb no está implicado directamente en la leucemogénesis, aunque se han encontrado niveles elevados de ARNm de c-myb en las células malignas con del(6q) (263).

Por otra parte se han encontrado sitios frágiles comunes en 6q21 y 6q26, los cuales son expresados en cultivos que contienen afidicolina. Por ello se sugiere que existen sitios que sufren alteraciones provocando la expresión de c-myb (120).

4.4.3.6. t(9;V)(p21;V) o del(9)(p21).

En 1983 Kowalczyk y Sandberg (264) describieron 7 niños con LLA y varios rearrreglos cromosómicos que afectan el brazo corto del cromosoma 9. La

principal pérdida es el segmento comprendido entre 9p21-pter. Estos pacientes presentan un inmunofenotipo compatible con células T, marcada leucocitosis, esplenomegalia y nódulos linfáticos agrandados, con mayor incidencia entre la población adolescente. Los autores proponen que se trata de un nuevo subtipo de LLA con t(9p) o del(9p).

Más tarde fueron apoyados estos datos por otros investigadores, al reportar los puntos de ruptura en 9p21-22 y factores linfomatosos no comunes en LLA de células-T (265,266). El mecanismo por el cual se pierde el material cromosómico es muy variado, incluye deleciones, translocaciones no balanceadas y pérdida completa del cromosoma 9 (13,267).

Se cree que la pérdida de genes reguladores localizados en 9p21-22. aunada a la pérdida de la actividad enzimática de fosforilasa (metil-adenosin-fosforilasa) en las células leucémicas con 9p-, constituirían los eventos primarios en el proceso leucémico (264,265,266).

4.4.3.7. t(12;v)(p12;v).

Raimondi y cols (1986), (268) reportan rearrreglos no específicos en 12p en 23 de 24 casos de LLA infantil. Todos tienen morfología de L1 por FAB excepto un inmunofenotipo de LLAc. Los cambios estructurales en la mayoría de los casos se localizan en 12p12 e incluyen deleciones terminales y translocaciones balanceadas y no balanceadas con cromosomas variables.

Fatich y cols (1989) reportan 11 pacientes con anormalidades estructurales que afectan 12p11-13 y comparan sus resultados con otros trabajos encontrando varias similitudes: la frecuencia de aberraciones estructurales en 12p11-13 es alta (10.5 y 9.5%); las translocaciones implican 12p11-13 y cromosomas variables; la mayoría de los pacientes tienen inmunofenotipo de LLAc de la línea-B CALLA+, por lo anterior hay suficiente

material para clasificar a la LLA con translocación o del(12p) como un nuevo subtipo citogenético (13,34,268).

El oncogen celular c-k-ras2 fue localizado en 12p12.1 pero se desconoce su participación en este rearreglo en relación a la proliferación celular maligna (13,104).

4.4.3.8. t(7;V) o del(7q).

En un estudio de 18 casos de niños con LLA se han reportado rearreglos en 7q (36). Los puntos de ruptura en los rearreglos estructurales de 7q son variables pero específicos para un inmunofenotipo determinado (13,36).

Los puntos de ruptura de células T en LLA se localizan en la región terminal de 7q (7q32 y 7q36); cuando el precursor es de células-B la ruptura ocurre en la región proximal de 7q(7q11 y 7q22). Con estos conocimientos se forma otro subgrupo de LLA con anormalidades en 7q (36).

En estudios moleculares se ha observado la activación de genes del locus TCR (cadena beta de células T) localizado en 7q32-36, así mismo también se ha visto involucrada la participación del oncogen c-met localizado en 7q31 y de los sitios frágiles comunes 7q31.2; 7q32.3 y 7q36, los cuales son más vulnerables a la acción de carcinógenos originando el rearreglo cromosómico que establece un fenotipo maligno (36,104).

4.4.3.9. t(8;14)(q24;q11), t(10;14)(q24;q11) y t(11;14)(p13;q11).

Estas alteraciones fueron asociadas con neoplasias de células-T por varios autores (269,270). No hay otros factores clínicos que distingan a estos pacientes de otros subgrupos de LLA aparte de células-T. La morfología de las células de médula ósea es de L1 o L2. Las tres implican una ruptura proximal en el brazo largo del cromosoma 14 y en la mayoría de los casos en la sub-

banda 14q11, en tanto que tiene lugar en una banda más distal (14q32). Por técnicas de alta-resolución en neoplasias de células-T con inv(14) y t(10;14), tentativamente se ha mapeado el punto de ruptura en la sub-banda 14q11.2 (269,270,271,272).

Los pacientes con cualquiera de las tres alteraciones antes mencionadas tienen 60% de probabilidad de alcanzar una remisión completa con una duración de 4 meses. En general tienen una sobrevida corta (4 meses) cuando se presenta como anormalidad primaria única. La sobrevida aumenta cuando el paciente presenta como anormalidad secundaria, hiperdiploidía (más de 50 cromosomas), sin embargo cuando se presenta en niños es considerada de alto riesgo (214,257,259).

La relación citogenética-morfológica presentada demuestra que los estudios cromosómicos son útiles para establecer un diagnóstico y pronóstico más certero. Sin embargo siempre deben complementarse con otro estudios en especial los casos con aberraciones compartidas por leucemias mieloides y linfoides. La clasificación del FAB, solo puede identificar diferencias pronósticas generales, pero existe una variación individual en remisión y sobrevida entre los diferentes sub-tipos del FAB. Es por ello que una clasificación del tipo MIC que relaciona la citogenética con la morfología, inmunología y pronóstico sería ideal para la caracterización de las leucemias en general (13,44,120,273).

CAPITULO III

MATERIAL Y METODOS.

Se buscó la información existente sobre los diferentes tipos de clasificaciones que son utilizadas para el diagnóstico de las leucemias agudas, además de los diferentes factores que predisponen a su etiología.

Se llevaron al cabo encuestas en las clínicas especializadas del Sector Salud del Area Metropolitana (IMSS, ISSSTE Y SSa) donde se realizan estudios morfológicos, citoquímicos y citogenéticos abarcando un período de 3 años (1991 - 1993) con el fin de establecer las alteraciones citogenéticas y el tipo de leucemias más frecuente en nuestra población, para ese lapso de tiempo.

De acuerdo a la información obtenida se pudo hacer una comparación de lo encontrado en la población mestizo mexicana del área metropolitana con respecto a lo reportado en la literatura, tratando de establecer una caracterización más real de las leucemias agudas así como de las alteraciones citogenéticas más frecuentes en esta población.

Preguntas realizadas en la encuesta.

1) Sexo.

2) Edad.

3) Proliferó la muestra SI NO

4) Procedencia de las células analizadas
Médula Osea Sangre Periférica.

5) Número de células analizadas
Células Normales Células Anormales.

6) Morfología de acuerdo a la Clasificación del FAB.

7) Se realizó estudio citoquímico SI NO

8) Clasificación Inmunológica (en caso de realizarse).

9) Alteraciones cromosómicas que se presentaron
Numéricas Estructurales

CAPITULO IV

RESULTADOS

En el periodo comprendido de 1990 a 1993 se diagnosticaron 200 casos de Leucemias Agudas en el Sector Salud correspondiente al Distrito Federal. Resultando de estos 200 pacientes, 128 (64%) con Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) y 72 (36%) con Leucemia Mieloblástica Aguda (LMA) (Gráfica 1). Los pacientes fueron numerados del 1 al 200, correspondiendo del 1-128 a LLA y del 129-200 a LMA (Tabla X y XI).

De los 128 pacientes con LLA, 54 (27%) fueron mujeres y 74 (37%) hombres (Gráfica 1). La edad promedio en las mujeres fue de 27.40 (con un rango de 70 años) incluyendo 9 (4.5%) pacientes pediátricos y en los hombres fue de 24.5 (con un rango de 76.7 años) incluyendo 32 (16%) pacientes pediátricos.

En las muestras de los pacientes se observó la siguiente morfología de acuerdo a la clasificación del FAB: L1, 30 casos (15%), 17 mujeres (8.5%) y 13 varones (6.5%); L2, 93 casos (46%), 35 mujeres (17.5%) y 58 varones (29%); L3, en 5 casos (2.5%), 2 mujeres (1%) y 3 hombres (1.5%) (Gráfica 2).

En cuanto al estudio citoquímico, 88 casos (44%) fueron identificados con PAS y en los restantes 41 (20.5%) se desconoce el dato (Gráfica 3).

Por lo que se refiere al estudio inmunológico 41 casos (20.5%) fueron CALLA; 38 (19%) células-B, 8 (4%) células pre-B; un caso (0.5%) células-T; y otro (0.5%) bifenotípico; a un caso no se le realizó y en los restantes 33 (16.5%) se desconoce el dato (Gráfica 4).

El material analizado para el estudio citogenético fue: 50 casos (25%) médula ósea (M.O); 70 (35%) sangre periférica estimulada (SPE); 7 (3.5%) sangre periférica sin estimular (SP) y en dos se desconoce el dato (Gráfica 5).

De los cariotipos observados en LLA: 106 casos (53%) presentaron células normales y anormales; 18 (9%) células anormales y sólo dos (1%) células normales (Gráfica 6).

En cuanto a los resultados de los cariotipos se presentaron: 36 casos (18%) con anormalidades numéricas; en 35 (17.5%) hubo tanto anormalidades numéricas como estructurales; 34 (17%) con solo una anomalía estructural; 19 (9.5%) con más de una anomalía estructural; dos (1%) presentaron células normales y uno caso (0.5%) no se desarrolló (Gráfica 7).

En cuanto a las anormalidades numéricas se encontró: en el caso 2 monosomía 15; en el 3 monosomía 16; en el 4 y 7, monosomía 7; en el 6 monosomía 17; en el 8, monosomía 7 y en el 9 monosomía 8 ambos acompañados de una hipodiploidía. El caso 101 presentó una trisomía 12, y el 102 y 103 trisomía 16, el 104 trisomía 21 y del caso 105 al 120 hiperdiploidías (47-54 cromosomas); en los casos 1 y del 121 al 127 se observaron hipodiploidías (20-45 cromosomas) (Gráfica 8).

En cuanto a las alteraciones estructurales se observó: en el caso 51 una delección del brazo largo del cromosoma 1 asociada a una delección del brazo largo del cromosoma 6; los casos 10, 11 y 12 una delección del brazo largo del cromosoma 2, en el 10 y 12 cromosomas extras y en el 11 una hipodiploidía; en el 13 una delección del brazo corto del cromosoma 3 asociada a una hiperdiploidía como anomalía secundaria; en el caso 52 una delección del brazo largo del cromosoma 4 y 11, ambas acompañadas por una trisomía 17; en los casos 5, 14, 16, 52 y 53 una delección del brazo largo del cromosoma 5, solo en los pacientes 15 y 16 se dio como anomalía única y en el resto apareció asociada a otras alteraciones estructurales y/o numéricas; en los casos 16 al 19 y 55 al 59 una delección del brazo largo del cromosoma 6, en la mayoría de los casos (excepto 57 y 58) se encontró asociada a otras

alteraciones, principalmente de tipo numérico; en el 76 una delección del brazo largo del cromosoma 7 como única anormalidad; en el 49 y 50 se presentaron polimorfismos de los cromosomas 16 y 1 respectivamente asociados con otras alteraciones; en el 24 se vio una inversión pericéntrica del cromosoma 2 como única anormalidad y en el 23 un gap en el brazo largo del cromosoma X (Gráfica 9).

Las translocaciones son sin duda la alteración estructural más frecuente en estos pacientes, 25 casos (12.5%) la presentaron como única anormalidad y 34 (17%) asociada a otras alteraciones numéricas y/o estructurales, se encontró en el caso 25 una $t(1;11)$ como única anormalidad; en el 26 y 62 una $t(1;12)$, en el primero acompañada de otras alteraciones estructurales y en el último como única anormalidad; en los casos 26, 27, 63 y 64 una $t(1;19)$, en los tres primeros pacientes como única alteración y en los restantes acompañadas por un cromosoma marcador extra; en los pacientes 66 y 67 una $t(1;7)$, en el primero asociada a un polimorfismo del cromosoma 16 y en el segundo como única anormalidad; los casos 30 y 77 con una $t(2;4)$, en el segundo acompañada de un cromosoma 8 extra; el caso 76 una $t(2;3)$ acompañada de trisomía 8; en el 68, 69, 70 y 71 una $t(2;12)$, solo en el primero como anormalidad única y en el resto asociada a otras alteraciones de tipo estructural principalmente; los casos 73, 74 y 75 con $t(2;8)$, solo en el último es asociada a un cromosoma marcador extra; en el 78 una $t(2;9;22)$ asociada a una delección del brazo corto del cromosoma 21; en el 32 una $t(3;X)$ asociada a una delección del brazo corto del cromosoma 7 y una delección del brazo largo del cromosoma 11; en los casos 79 y 80 una $t(3;4)$, solo en el primero asociada a un derivado del cromosoma 4; en los casos 33 al 37 y 82 una $t(4;11)$, solo en los casos 34 y 35 apareció como única anormalidad, en el resto estuvo asociada a hiperdiploidía; el caso 84 presentó una $t(5;6)$

asociada a una t(9;22) como anormalidad secundaria; en el 83 una t(5;18) acompañada de hipodiploidia; el 85 una t(6;7) como única alteración; en los casos 38 y 39 una t(6;11) y t(6;12) respectivamente como única anormalidad; en los pacientes del 86 al 89 tuvieron una t(7;11), en todos asociada a otras alteraciones estructurales y/o numéricas y por último la t(9;22) siendo que la más frecuente fue observada en los casos 41 al 47 y del 90 al 97, en la mitad de estos se vió como única anormalidad y en la otra mitad asociada a otras alteraciones.

Sólo en dos pacientes no se observó cariotipo alterado (casos 49 y 98) (Gráfica 10).

De los 72 pacientes (36%) con LMA, 36 fueron mujeres (18%) y 36 varones (18%) (Gráfica 1). En las mujeres la edad promedio fue de 36.19 (con un rango de 57 años) incluyendo dos pacientes pediátricos. En varones la edad promedio fue de 36.22 (con un rango de 44 años de edad) incluyendo 6 pacientes pediátricos.

En los pacientes con LMA se encontró la siguiente morfología de acuerdo a la clasificación FAB. M1: 6 casos (3%) 2 mujeres (1%) y 4 varones (2%), M2: 23 (11.5%), 10 mujeres (5%) y 13 varones (6%), M3: en 14 (7%), 9 mujeres (4.5%) y 5 varones (2.5%), M5: en 7 (3%), 3 mujeres (1.5%) y 4 varones (2%), M6: en 6 (3%), 4 mujeres (2%) y 2 varones (1%), M7: en 2 (1%), una mujer (0.5%) y un hombre (0.5%) (Gráfica 2).

En cuanto al estudio citoquímico se identificaron 24 casos (12%) con Sudán, 24 (12%) con esterasa, 9 (4.5%) con peroxidasa y en 15 (7.5%) no se realizó (Gráfica 3).

El material analizado para el estudio citogenético fue Médula Osea (MO) en 58 casos (29%); Sangre Periférica Estimulada (SPE) en 4 (2%); Sangre

Periférica sin Estimular (SP) en 2 (1%); MO/SPE en 3 (1.5%); MO/SP en 2 (1%) y SP/SPE en 2 casos (1%) (Gráfica 5).

De los cariotipos observados en LMA: en 65 casos (32.5%) se hallaron células normales y anormales, 5 (2.5%) células anormales y en 2 (1%) células normales (Gráfica 6).

En cuanto a los resultados de los cariotipos se encontró: en 15 casos (7.5%) anomalías numéricas; en 31 (15.5%) sólo una anomalía estructural; en 13 (6.5%) tanto alteraciones numéricas como estructurales; en 12 (6%) más de una anomalía estructural y sólo en 2 (1%) células normales (Gráfica 7).

En cuanto a las anomalías numéricas se observaron: en los casos 129, 131, 132 y 133 monosomía 7 como única anomalía; en el 130 monosomía 7 asociada con una delección del brazo largo del cromosoma 5; del 190 al 199 un cromosoma 8 extra y en el 200 hiperdiploidía con mas de 50 cromosomas (Gráfica 8).

En cuanto a las alteraciones estructurales que fueron las más frecuentes (55 casos 27.5%) se obtuvo: en los casos 162 y 163 delección del brazo largo del cromosoma 1 como única anomalía; en el 134 una delección del brazo largo del cromosoma 2; en el 134, 165, 166 y 167 una delección del brazo largo del cromosoma 6, en casi todos ellos se presentó como única anomalía primaria, excepto en el 136 que se asocia a cromosomas extras; en el caso 164 se presentó una delección del brazo largo del cromosoma 11 asociada con una hiperdiploidía con más de 50 cromosomas; en los casos 137, 138, 139 y 169 se encontró como anomalía primaria una inversión pericéntrica del cromosoma 16, en los dos primeros como única anomalía y en los dos últimos asociada a otras alteraciones numéricas y/o estructurales; en el caso 168 se vio un

isocromosoma en el brazo largo del cromosoma 17 como única anormalidad (Gráfica 9).

La anomalía que se presentó con mayor frecuencia fue la translocación con 39 casos (19.5%). De estos, en 20 (10%) tuvieron ésta alteración como única y 19 (9.5%) asociada a otras alteraciones numéricas y/o estructurales, se observó en los casos 141, 142 y 170 una $t(1;18)$ pero en todos se vio asociada a otras anormalidades cromosómicas; en el caso 151 una $t(2;5)$ como única anormalidad primaria; en el 150 una $t(2;12)$ asociada a una monosomía 7 como alteración secundaria; en el 178 una $t(2;7)$ asociada a una delección del brazo largo del cromosoma 5; en el 177 una $t(2;14)$ acompañada de monosomía 7; en el 153 una $t(3;3)$ como única anormalidad; en el 152 una $t(3;11)$ asociada a una delección del brazo largo del cromosoma 7; en el 179 una $t(4;17)$ acompañada de una delección del brazo largo del cromosoma 1 como alteración secundaria; en el 154 una $t(6;8)$ como única anormalidad; en los casos 155, 180 y 181 una $t(6;9)$ como única anormalidad primaria; en el caso 182 se presentó una $t(7;14)$ asociada a una delección del brazo largo del cromosoma 4 y 6, todas como alteraciones primarias; en el 19 una $t(7;16)$ asociada a una delección del brazo largo del cromosoma 3; en los casos 155, 156, 184 y 185 una $t(8;21)$ en los tres primeros como única anormalidad y en el último asociada a una $t(6;9)$, como alteración secundaria; en los pacientes 158, 159, 160, 187 y 188 una $t(9;22)$, en todos los casos asociada a otras alteraciones numéricas y/o estructurales (Gráfica 11).

TABLA X. RESULTADOS DEL ANALISIS CITOGENETICO DE LOS PACIENTES CON LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA.

C	S	E	MOR	CITO	IMMU	M.A.	N/A	CARIOTIPO.
1	M	4	L1	?	?	MO	14/11	43,XY,-13,-21,-22./hipo 40 - 45 crom.
2	F	36	L2	?	?	MO	4/6	45,XX,-15.
3	F	5	L1	?	?	MO	12/3	45,XX,-16.
4	F	9	L2	?	?	SPE	3/15	45,XX,-7.
5	F	37	L2	PAS+	CALLA+	SPE*	16/22	45,XX,del(5)(q13),t(9;22)(q34;q11),-6./46,XX,del(5)(q13),t(9;22)(q34;q11)
6	M	2	L1	?	?	MO	21/8	45,XY,-17.
7	M	56	L2		CALLA+	SPE	11/18	45,XY,-7.
8	M	16	L2	PAS+	CALLA+	MO*	19/4	45,XY,-7./hipo 41- 45 crom.
9	M	6	L1	?	?	MO	8/17	45,XY,-8./hipo 35 - 40 crom.
10	F	63	L2		S/I	SPE*	11/17	46,XX,del(2)(q32)./47,XX,del(2)(q32),+m.
11	F	26	L3	PAS+	CALLA+	SP*	8/7	46,XX,del(2)(q32)./hipo 40 - 45 crom.
12	F	10	L2	PAS+	CALLA+	MO*	8/7	46,XX,del(2)(q35)./47,XX,+8.
13	F	10	L2	PAS+	CALLA+	SP*	8/14	46,XX,del(3)(p21)./ hiper > 50 crom.
14	F	16	L3	PAS+	CALLA+	MO*	0/16	46,XX,del(5)(q12-14),-12,+m/46,XX,del(5)(q12-14),del(11)(q23)/hiper>50crom.
15	F	72	L2	PAS+	CEL-B	MO	10/15	46,XX,del(5)(q13-22).
16	F	17	L2	PAS+	CEL-B	SP*	5/12	46,XX,del(5)(q34).
17	F	38	L2	PAS+	CEL-B	SPE	7/6	46,XX,del(6)(q15)./46,XX,del(6)(q15),del(9)(?).
18	F	37	L2	PAS+	CEL-B	SPE	5/12	46,XX,del(6)(q15)./46,XX,del(6)(q15),der(12).
19	F	19	L2	PAS+	CEL-B	SPE	3/7	46,XX,del(6)(q23)./48,XX,del(6)(q23),+11,+19.
20	F	66	L2	PAS+	CALLA+	MO*	0/9	46,XX,del(6)(q24)./46,XX,del(6)(q24),t(9;22)(q34;q11).
21	F	14	L1	PAS+	CEL-B	SPE	8/18	46,XX,dup(2)(q34).
22	F	16	L1	PAS+	?	SPE	12/16	46,XX,dup(2)(q34)./45,XX,dup(2)(q34),-15.
23	F	3	L2	?	?	MO	16/10	46,XX,gap(X)(q?).
24	F	47	L2	PAS+	CALLA+	SPE*	6/20	46,XX,inv(2)(p21;q37).
25	F	25	L1	PAS+	PRE-B	SPE	6/15	46,XX,t(1;11)(p32;q23).
26	F	39	L1	PAS+	CALLA+	SPE*	0/9	46,XX,t(1;12)(p34;q23),del(5)(q32),del(7)(q22-31)/46,XX,t(9;22)(q34;q11).
27	F	47	L1	PAS+	PRE-B	SPE	7/18	46,XX,t(1;19)(q23;p13).
28	F	10	L1	?	?	MO	0/25	46,XX,t(1;19)(q23;p13).
29	F	21	L2	PAS+	CEL-B	SPE	8/5	46,XX,t(11;22)(p11;q11).
30	F	39	L2	?	?	MO	0/9	46,XX,t(14;22)(q11;q11).
31	F	13	L1	?	?	SPE	7/5	46,XX,t(2;4)(q23;q35).
32	F	35	L2	PAS+	CALLA+	SP*	3/13	46,XX,t(3;X)(q25;q22),del(7)(p21),del(11)(q23).
33	F	66	L2		BIFENO	MO	3/9	46,XX,t(4;11)(q21;q23),hiper > 59 crom.
34	F	28	L2	PAS+	PRE-B	MO	0/7	46,XX,t(4;11)(q21;q23).
35	F	12	L2	PAS+	PRE-B	SPE	3/11	46,XX,t(4;11)(q21;q23).
36	F	35	L2	PAS+	CEL-B	MO	0/41	46,XX,t(4;11)(q21;q23)./47,XX,t(4;11)(q21;q23),+m./hiper > 50 crom.

TABLA X. RESULTADOS DEL ANALISIS CITOGENETICO DE LOS PACIENTES CON LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA.

37	F	31	L2	PAS+	PRE-B	MO	1/9	46,XX,t(4;11)(q21;q23)./48,XX,t(4;11)(q21;q23),+m1,m2.
38	F	19	L2	?	?	MO	12/20	46,XX,t(6;11)(q25;p15).
39	M	27	L2	?	?	MO	8/22	46,XX,t(6;12)(q24;p12).
40	F	25	L2	PAS+	CALLA+	SPE*	16/17	46,XX,t(6;18)(q24;q21)./46,XX,t(6;18)(q24;q21),t(9;22)(q34;q11).
41	F	46	L2	?	?	MO	5/10	46,XX,t(6;18)(q24;q21)./47,XX,t(6;18)(q24;q21),+8.
42	F	37	L1	PAS+	CEL-B	SPE	8/13	46,XX,t(9;22)(q34;q11).
43	F	46	L1	PAS+	CEL-B	SPE	6/18	46,XX,t(9;22)(q34;q11).
44	F	25	L2	PAS+	CEL-B	SPE	8/4	46,XX,t(9;22)(q34;q11).
45	F	33	L2	PAS+	CEL-B	SPE	8/11	46,XX,t(9;22)(q34;q11)./del(21)(q22)/hiper > 50 crom.
46	F	52	L2	PAS+	CEL-B	SPE	5/13	46,XX,t(9;22)(q34;q11)./hiper > 50 crom.
47	F	19	L2	PAS+	CALLA+	MO*	7/16	46,XX,t(9;22)(q34;q11)./hipo 37 - 42 crom.
48	F	3	L1	?	?	MO	25/0	46,XX.
49	M	3	L2	?	?	MO	0/25	46,XY,16qh+. /47,XY,26qh+,+17.
50	M	33	L2	PAS+	CALLA+	SPE	15/15	46,XY,1qh+,t(9;22)(q34;q11)./46,XY,1qh+,t(9;22)(q34;q11),del(6)(q21).
51	M	61	L2	PAS+	CEL-B	MO	12/18	46,XY,del(1)(p34)./46,XY,del(1)(p34),del(6)(q13-21).
52	M	20	L3	PAS+	CEL-B	SPE*	8/13	46,XY,del(4)(q31),del(11)(q23)./47,XY,del(4)(q31),del(11)(q23),+17.
53	M	16	L2	PAS+	CEL-B	SP*	5/4	46,XY,del(5)(q13;q34)./46,XY,del(7)(q22),+10,-22.
54	M	17	L2	PAS+	CALLA+	SPE*	24/22	46,XY,del(5)(q32)./47,XY,+m.
55	M	19	L2	PAS+	CEL-B	SPE	11/22	46,XY,del(6)(q21-25).
56	M	21	L2	PAS+	CEL-B	MO	5/12	46,XY,del(6)(q23),hiper > 50 crom.
57	M	21	L2	PAS+	CEL-B	SPE	7/11	46,XY,del(6)(q23).
58	M	25	L2	PAS+	CEL-B	SPE	8/4	46,XY,del(6)(q23).
59	M	17	L2	PAS+	CEL-B	SPE	8/15	46,XY,del(6)(q23)./45,XY,del(6)(q23),-15.
60	M	23	L2	PAS+	CEL-B	SPE	2/7	46,XY,del(6)(q23)./46,XY,del(6)(q23),+11,-19.
61	M	20	L2	PAS+	CALLA+	SPE*	8/14	46,XY,del(7)(q34).
62	M	27	L2	PAS+	CEL-B	SPE	3/21	46,XY,t(1;12)(q23;q34).
63	M	22	L2	PAS+	CEL-B	SPE	6/18	46,XY,t(1;12)(q23;q34)./46,XY,t(1;12)(q23;q34),del(6)(q21).
64	M	8	L2	PAS+	PRE-B	SPE	6/4	46,XY,t(1;19)(q23;p13).
65	M	6	L1	PAS+	PRE-B	SPE	7/11	46,XY,t(1;19)(q23;p13)./47,XY,t(1;19)(q23;p13),+m.
66	M	28	L2	PAS+	CALLA+	SPE	16/40	46,XY,t(1;7)(p13;q23),16qh+. /47,XY,t(1;7)(p13;q23),16qh+,+22.
67	M	32	L2	PAS+	CALLA+	SPE	13/22	46,XY,t(1;7)(p13;q23).
68	M	20	L1	PAS+	CEL-B	SPE	13/15	46,XY,t(17;19)(q11;p13)./46,XY,i(17)(p11;q11).
69	M	48	L2	PAS+	CEL-B	SPE	8/3	46,XY,t(2;12)(q23;q34).
70	F	52	L2	PAS+	CEL-B	SPE	6/4	46,XY,t(2;12)(q23;q34)./47,XY,t(2;12)(q23;q34),+18.
71	M	15	L2	PAS+	CALLA+	SPE*	0/12	46,XY,t(2;12)(q24;q21),del(6)(q21),der(4)(q21).
72	M	67	L2	PAS+	CALLA+	SPE*	0/10	46,XY,t(2;12)(q34;q21),del(6)(q21-26).
73	M	18	L2	PAS+	CALLA+	MO	5/15	46,XY,t(2;18)(q15;p12).
74	M	22	L2	PAS+	CALLA+	MO	3/18	46,XY,t(2;18)(q15;p12).
75	M	27	L2	PAS+	CALLA+	MO	0/20	46,XY,t(2;18)(q15;p12)./47,XY,t(2;18)(q15;p12),+m.

TABLA X. RESULTADOS DEL ANALISIS CITOGENETICO DE LOS PACIENTES CON LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA.

76	M	49	L2	?	?	SPE	7/13	46,XY,t(2;3)(q36;p11)./47,XY,t(2;3)(q36;p11),+8.
77	M	9	L1	?	?	MO	0/20	46,XY,t(2;4)(q23;q35)./47,XY,t(2;4)(q23;q35),+8.
78	M	20	L2	PAS+	CALLA+	SPE	8/17	46,XY,t(2;9;22)(q34;q34;q11),del(21)(p?).
79	M	13	L2	?	?	SPE	11/31	46,XY,t(3;4)(q24-25;q26)./46,XY,t(3;4)(q24-25;q26),del(6)(q21).
80	M	10	L2	?	?	SPE	14/32	46,XY,t(3;4)(q24;q26).
81	M	24	L2	PAS+	CEL-B	SPE*	12/8	46,XY,t(3;9)(q25;q22),der(4)(q24),t(4;?)(q24;?).
82	M	24	L2	PAS+	CALLA+	MO*	0/8	46,XY,t(4;11)(q21;q23)./hiper > 50 crom.
83	M	77	L2	?	?	MO	3/15	46,XY,t(5;18)(q15;q21)./45,XY,t(5;18)(q15;q21),-13,-18,+21.
84	M	17	L2	PAS+	CALLA+	SPE*	0/16	46,XY,t(5;6)(q12;q16)./46,XY,t(9;22)(q34;q11).
85	M	32	L2	PAS+	CALLA+	MO	6/18	46,XY,t(6;7)(q24;q34).
86	M	54	L1	PAS+	CEL-B	MO	4/8	46,XY,t(7;11)(q22;q14)./44,XY,t(7;11)(q22;q14),-4,-9.
87	M	23	L2	PAS+	CALLA+	SPE*	3/21	46,XY,t(7;11)(q34;q23)./47,XY,t(7;11)(q34;q23),+12.
88	M	19	L2	PAS+	CALLA+	SPE*	6/12	46,XY,t(7;11)(q34;q24),del(5)(q32),dup(1)(q31-32).
89	M	19	L2	PAS+	CEL-B	SPE*	1/27	46,XY,t(7;11)(q34;q24)./46,XY,t(7;11)(q34;q24),t(6;18)(p11;q23).
90	M	46	L2		CEL-T	SPE	3/12	46,XY,t(9;22)(q34;q11),del(7)(q22),hiper > 50 crom.
91	M	48	L2	PAS+	PRE-B	SPE	7/6	46,XY,t(9;22)(q34;q11).
92	M	49	L2	PAS+	CALLA+	SPE	3/17	46,XY,t(9;22)(q34;q11).
93	M	17	L2	PAS+	CEL-B	SPE	11/7	46,XY,t(9;22)(q34;q11).
94	M	9	L1	?	?	MO	25/25	46,XY,t(9;22)(q34;q11).
95	M	68	L2	PAS+	CEL-B	SPE	0/7	46,XY,t(9;22)(q34;q11)./47,XY,del(7)(q11),+m./hiper > 50 crom.
96	M	57	L2	PAS+	CEL-B	SPE	11/7	46,XY,t(9;22)(q34;q11)./47,XY,t(9;22)(q34;q11),+m.
97	M	57	L2	PAS+	CEL-B	SPE	0/22	46,XY,t(9;22)(q34;q11)./hiper > 50 crom.
98	M	4	L2	?	?	MO	25/0	46,XY.
99	M	11	L2	?	?	MO	14/11	46,XY./hiper 50 - 60 crom.
100	F	27	L2	PAS+	CALLA+	MO*	3/13	47,XX,2q+,+1./46,XX,del(5)(q13),2q+.
101	F	17	L1	?	?	SPE	22/32	47,XX,9qh+,+m./hiper (88 - 92 crom), +4,+8,+18,+21.
102	M	30	L2	PAS+	CALLA+	SP*	3/4	47,XY,+12.
103	M	18	L2	PAS+	CALLA+	SPE	16/14	47,XY,+16.
104	M	12	L2	?	?	MO	18/7	47,XY,+16.
105	M	1m	L2	?	?	MO	0/25	47,XY,+21.
106	M	1m	L2	?	?	MO	9/11	47,XY,+21./47,XY,+21,5q+.
107	F	4	L1	?	?	MO	5/20	48,XX,+18,+21./hiper 47 - 50 crom.
108	F	15	L2	PAS+	CEL-B	MO	20/5	48,XX,+21,+21./hiper > 50 crom. (+2,+4,+8,+12,+16,+21).
109	F	27	L1	PAS+	PRE-B	SPE	7/16	49,XX,+3,+15./hiper < 50 crom.
110	M	44	L2	PAS+	CALLA+	SPE*	13/10	49,XY,+10,+18,+21./48,XY,+10,+18./hiper 47 - 50 crom.
111	M	3	L1	?	?	SPE	15/8	49,XY,+5,+12./hiper > 50 crom.
112	M	56	L2	PAS+	CALLA+	MO	3/18	49,XY,+8,+11./hiper > 50 crom.
113	F	18	L2	PAS+	CALLA+	SPE	0/21	50,XX,+18,+21,+m1,+m2./hiper > 50 crom.
114	M	4*	L1	PAS+	CEL-B	MO	0/11	50,XY,+3,+4,+19,+m./hiper > 50 crom.

TABLA X. RESULTADOS DEL ANALISIS CITOGENETICO DE LOS PACIENTES CON LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA.

115	M	12	L2	PAS+	CALLA+	SPE*	3/11	50,XY,+3,+8,+20,+21./49,XY,+8,+20,+21./hiper 47 - 50 crom.
116	M	21	L2	PAS+	CALLA+	SPE	7/28	51,XY,+8,+10,+13,+21,+22./hiper > 50 crom.
117	M	17	L2	PAS+	CALLA+	MO	30/5	53,XY,+1,+3,+6,+8,+12,+16,+21./hiper > 50 crom.
118	F	28	L2	PAS+	CEL-B	SPE	8/7	54,XX,,+3,+6,+8,+12,+13,+18,+21,+m./hiper > 50 crom.
119	M	21	L2	PAS+	CALLA+	MO	8/9	54,XY,+1,+4,+7,+8,+10,+13,+18,+21./ hiper > 50 crom.
120	M	7	L3	PAS+	CEL-B	MO	8/9	54,XY,+8,+15,+20,+21,+22,+m1,+m2./hiper > 50 crom.
121	F	8	L1	?	?	SPE	15/17	hipo 20 - 44 crom.
122	M	3	L1	?	?	SPE	1/5	hipo 22- 40 crom.
123	M	12	L1	?	?	MO	21/20	hipo 25 - 41 crom.
124	M	6	L3	?	?	MO	11/9	hipo 31 - 45 crom.
125	F	5	L1	?	?	MO	13/12	hipo 35 - 45 crom.
126	F	20	L2	PAS+	CALLA+	SP*	5/8	hipo 36 - 37 crom.
127	M	2	L1	?	?	SPE	10/6	hipo aprox. 35 crom.
128	F	12	L1	?	?	--	--	Sin desarrollo.

C = Caso; S = Sexo; E = Edad; Mor = Morfología; Cito = Citoquímica; Inmu = Inmunofenotipo; M.A. Material Analizado; N/A = No. de Células Analizadas; F = Femenino; M = Masculino; MO = Médula Osea; SPE Sangre Periférica Estimulada; SP = Sangre periférica; * Realizados por las autoras; ? = Se desconoce el dato.

TABLA XI. RESULTADOS DEL ANALISIS CITOGENETICO DE LOS PACIENTES CON LEUCEMIA MIELOBLASTICA AGUDA.

C	S	E	MOR	CITO	M.A.	N/A	CARIOTIPO
129	F	70	M2	SUDAN +	MO*	5/05	45,XX,-7.
130	M	16	M5	----	MO*	22/26	45,XY,-7.
131	F	28	M2	SUDAN +	MO	0/23	45,XX,-7.
132	F	29	M3	----	MO	38/12	45,XX,-7.
133	F	21	M3	ESTERASA +	MO	4/04	46,XX,del(2)(q32;q34).
134	F	47	M5	----	MO*	14/13	46,XX,del(5)(q34)./45,XX,-7.
135	F	13	M4	PEROXIDASA+	SPE	13/12	46,XX,del(6)(q13-14).
136	F	41	M2	SUDAN +	MO*	5/10	46,XX,del(6)(q24)./47,XX,del(6)(q24).+22./46,XX,del(6)(q24).-8,+5.
137	F	19	M4	SUDAN +	MO/SPE	9/3:15/4	46,XX,del(inv(16)(p13;q32)).
138	F	33	M4	ESTARASA +	MO	22/14	46,XX,inv(16)(p13;q22).
139	M	42	M4	ESTERASA +	MO	41/11	46,XX,inv(16)(p13;q22)./47,XX,inv(16)(p13;q22).+8.
140	F	19	M4	PEROXIDASA+	SPE	17/40	46,XX,r(3)(p25;q28)./45,XX,-21./45,XX,-18./47,XX,+22.
141	F	37	M5	ESTERASA +	SP*	0/13	46,XX,t(1;18)(q12;q23),t(3;11)(q21;q23),del(6)(q34).
142	M	37	M5	ESTERASA +	SP/SPE*	1/4:3/5	46,XX,t(1;18)(q32;p11),del(6)(q34),del(11)(q23)./47,XX,+m.
143	F	19	M2	SUDAN +	MO	2/30	46,XX,t(10;14)((q24;q32),i(17q)./hipo 43 - 46 crom.
144	F	40	M4	SUDAN +	MO	0/9	46,XX,t(11;17)(q23;q21).
145	F	49	M3	ESTERASA +	MO	8/12	46,XX,t(15;17)(q22;q11).
146	F	53	M3	----	MO	7/11	46,XX,t(15;17)(q22;q11).
147	F	61	M3	ESTERASA +	MO	04/16	46,XX,t(15;17)(q22;q11).
148	F	35	M3	ESTERASA +	MO	11/09	46,XX,t(15;17)(q22;q11)./46,XX,t(15;17)(q22;q11),del(6)(q27).
149	F	59	M3	ESTERASA +	MO	07/14	46,XX,t(15;17)(q22;q11-12).
150	F	25	M5	ESTERASA +	SPE*	0/11	46,XX,t(2;12)(q11;p13)./45,XX,-7.
151	F	67	M2	SUDAN +	MO*	2/11	46,XX,t(2;5)(q33;q31).
152	F	53	M6	ESTERASA +	MO	07/28	46,XX,t(3;11)(q27;q23)./46,XX,t(3;11)(q27;q23),del(7)(q34).
153	F	25	M4	PEROXIDASA+	MO*	6/05	46,XX,t(3;3)(q21;q26).
154	F	27	M6	ESTERASA +	MO	05/17	46,XX,t(6;8)(q25;q24).
155	F	30	M2	SUDAN +	MO	13/28	46,XX,t(6;9)(p21;q34).
156	F	19	M2	SUDAN +	MO	08/25	46,XX,t(8;21)(q11;q22).
157	M	20	M2	SUDAN +	SPE	07/27	46,XX,t(8;21)(q22;q22).
158	F	53	M6	ESTERASA +	MO	08/24	46,XX,t(9;22)(q34;q11)./46,XX,t(9;22)(q34;q11),del(7)(q22).
159	F	18	M7	----	SP	06/15	46,XX,t(9;22)(q34;q11)./46,XX,t(9;22)(q34;q11),del(7)(q22)./hiper > 50 crom
160	F	22	M4	PEROXIDASA+	MO	11/08	46,XX,t(9;22)(q34;q11)./47,XX,t(9;22)(q34;q11).+18.
161	F	29	M6	ESTERASA +	MO	11/00	46,XX.
162	M	38	M4	PEROXIDASA+	MO*	13/18	46,XY,del(1)(q23).
163	M	60	M1	SUDAN +	MO*	3/06	46,XY,del(1)(q32).
164	M	57	M6	ESTERASA +	MO/SPE*	0/4:3/11	46,XY,del(11)(q23)./hiper > 50 crom.
165	M	46	M5	ESTERASA +	MO	32/27	46,XY,del(6)(q13).

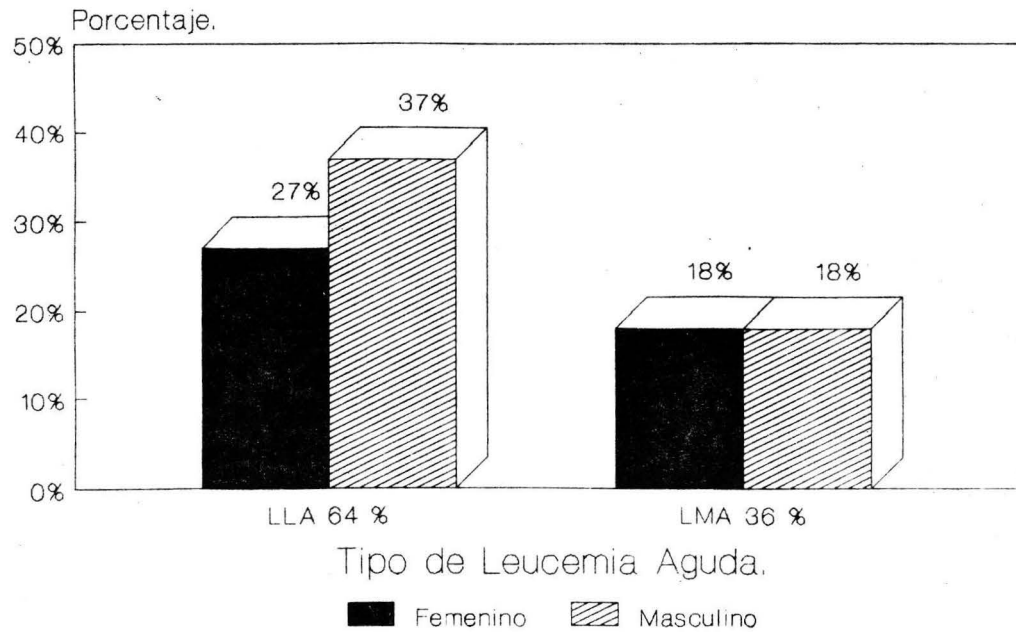
TABLA XI. RESULTADOS DEL ANALISIS CITOGENETICO DE LOS PACIENTES CON LEUCEMIA MIELOBLASTICA AGUDA.

166	M	52	M5	----	MO	23/28	46,XY,del(6)(q13-14).
167	M	43	M3	----	MO	13/9	46,XY,del(6)(q27).
168	M	50	M6	ESTERASA +	MO	35/7	46,XY,i(17q).
169	F	37	M4	ESTERASA +	MO	21/33	46,XY,inv(16)(p13;q21)./46,XY,inv(16)(p13;q21),t(15;17)(q22;q12).
170	M	52	M2	SUDAN +	MO	5/13	46,XY,t(1;18)(q32;p11)./46,XY,t(1;18)(q32;p11),del(5)(q13).
171	M	47	M3	ESTERASA +	MO	33/22	46,XY,t(15;17)(q22;q11).
172	M	51	M3	ESTERASA +	MO	35/9	46,XY,t(15;17)(q22;q11).
173	M	34	M3	ESTERASA +	MO	8/6	46,XY,t(15;17)(q22;q11).
174	M	47	M3	ESTERASA +	MO	18/23	46,XY,t(15;17)(q22;q11).
175	M	63	M3	ESTERASA +	MO	32/9	46,XY,t(15;17)(q22;q11)./46,XY,t(15;17)(q22;q11),+8.
176	M	17	M3	----	MO	15/8	46,XY,t(15;17)(q34;q12-21).
177	M	29	M7	----	SP/SPE*	0/5:0/5	46,XY,t(2;14)(p13;q32)./45,XY,-7.
178	M	15	M2	?	MO	4/30	46,XY,t(2;7)(q21;q22)./46,XY,t(2;7)(q21;q22),del(5)(q34).
179	M	15	M4	PEROXIDASA+	MO*	3/9	46,XY,t(4;17)(q31;p11),del(1)(q23).
180	M	23	M2	SUDAN +	MO	33/22	46,XY,t(6;9)(p23;q34).
181	M	36	M2	----	MO	40/10	46,XY,t(6;9)(p23;q34).
182	M	27	M2	ESTERASA +	MO/SP*	5/4:3/5	46,XY,t(7;14)(q32;q32),del(4)(q31-34),del(6)(q16).
183	M	17	M2	SUDAN +	MO/SP*	1/45:4/3	46,XY,t(7;16)(q36;q32),del(3)(q26).
184	M	13	M2	SUDAN +	MO	15/32	46,XY,t(8;21)(q11;q22).
185	M	20	M2	SUDAN +	MO	11/18	46,XY,t(8;21)(q11;q22)./46,XY,t(8;21)(q11;q22),t(6;9)(p23;q34).
186	M	28	M2	SUDAN +	MO	23/17	46,XY,t(8;21)(q22;q22).
187	M	25	M4	PEROXIDASA+	MO/SPE*	0/13:2/7	46,XY,t(9;22)(q34;q11),del(5)(q34)./45,XY,-7./hipo 31 - 45 crom.
188	M	20	M1	SUDAN +	SPE	10/21	46,XY,t(9;22)(q34;q11)./46,XY,t(9;22)(q34;q11),t(2;10)(q37;q34).
189	M	42	M4	PEROXIDASA+	MO*	15/0	46,XY.
190	F	35	M4	PEROXIDASA+	MO	11/27	47,XX,+8.
191	F	32	M1	SUDAN +	MO	35/15	47,XX,+8.
192	F	44	M1	SUDAN +	MO	12/33	47,XX,+8.
193	F	53	M2	----	MO	22/9	47,XX,+8.
194	F	42	M2	----	MO	35/15	47,XX,+8.
195	M	54	M1	SUDAN +	MO	22/38	47,XY,+8.
196	M	22	M2	SUDAN +	MO	24/26	47,XY,+8.
197	M	57	M2	SUDAN +	MO	34/16	47,XY,+8.
198	M	39	M1	----	MO	11/18	47,XY,+8.
199	M	50	M2	SUDAN +	MO	25/17	47,XY,+8.
200	F	19	M2	----	MO	23/33	hiper > 50 crom.

C = Caso; S = Sexo; E = Edad; Mor = Morfologías; Cito = Citoquímica; M.M.A Mat. Analizado; N/A = No. de Cél Analizadas; MO = Médula Osea
SPE = Sangre Periférica Estimulada; SP = Sangre Periférica; * Realizado por las autoras.

GRAFICA 1

LEUCEMIAS AGUDAS

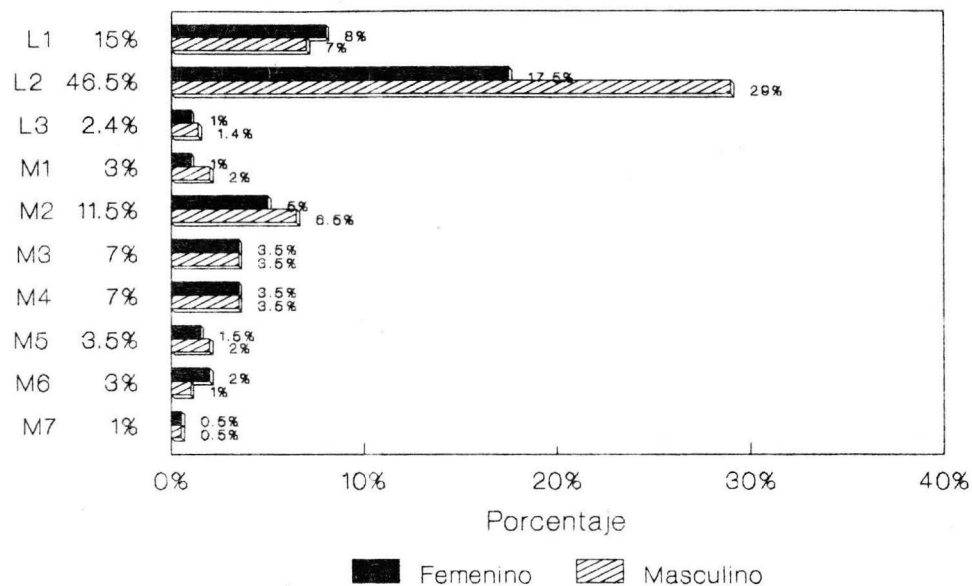


LEUCEMIA LINFOBLASTICA (LLA) Y
MIELOBLASTICA (LMA) POR SEXOS.

GRAFICA 2

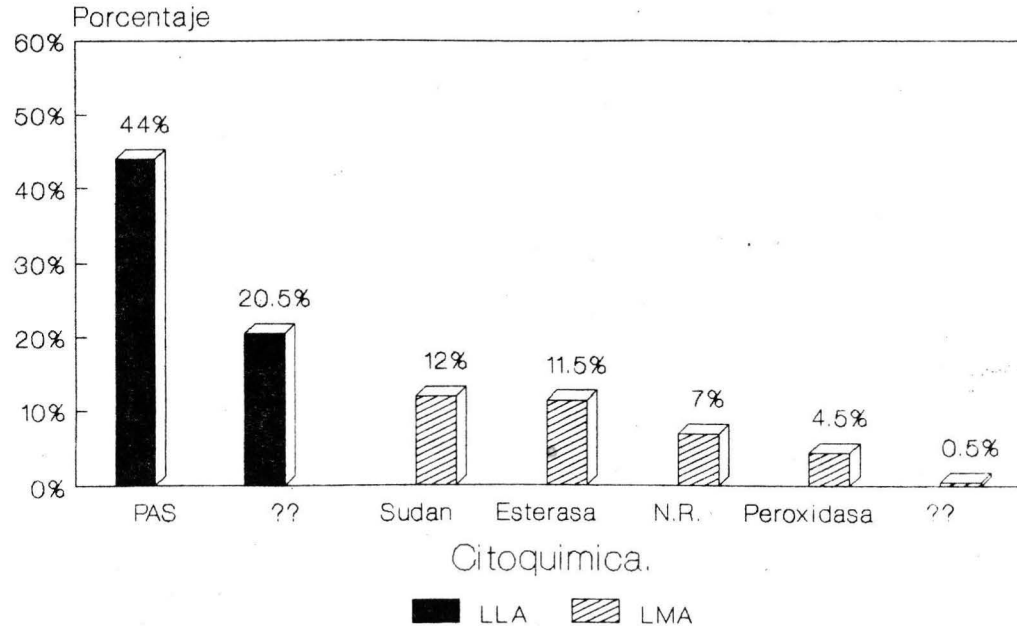
LEUCEMIAS AGUDAS POR SEXO

Morf. de L.A.



PORCENTAJE DE LOS SUBTIPOS
LEUCEMIAS AGUDAS POR SEXO.

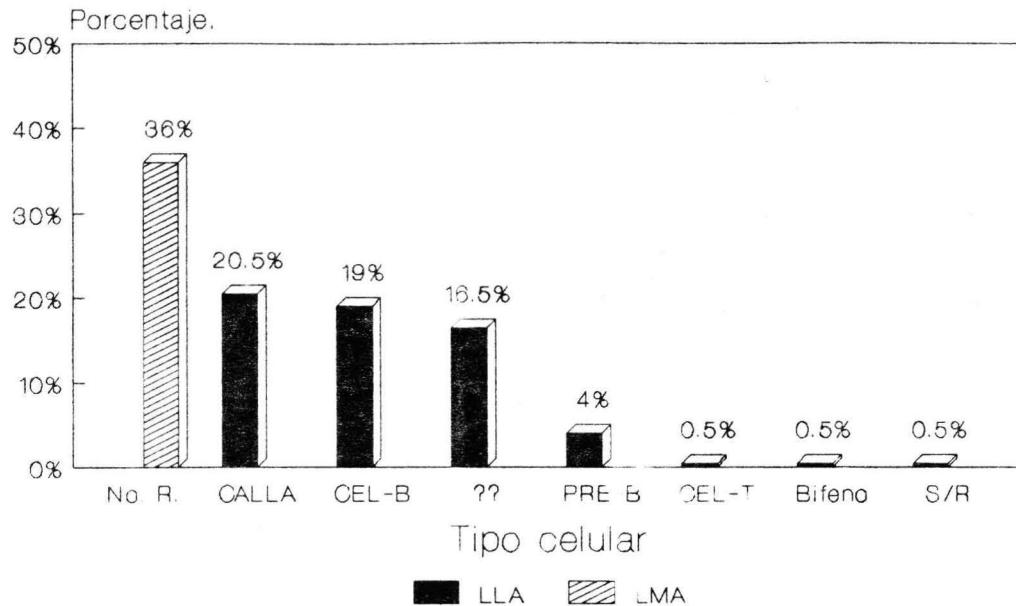
GRAFICA 3 ESTUDIO CITOQUIMICO



?? = se desconoce el dato.
N. R. = no se realizó.

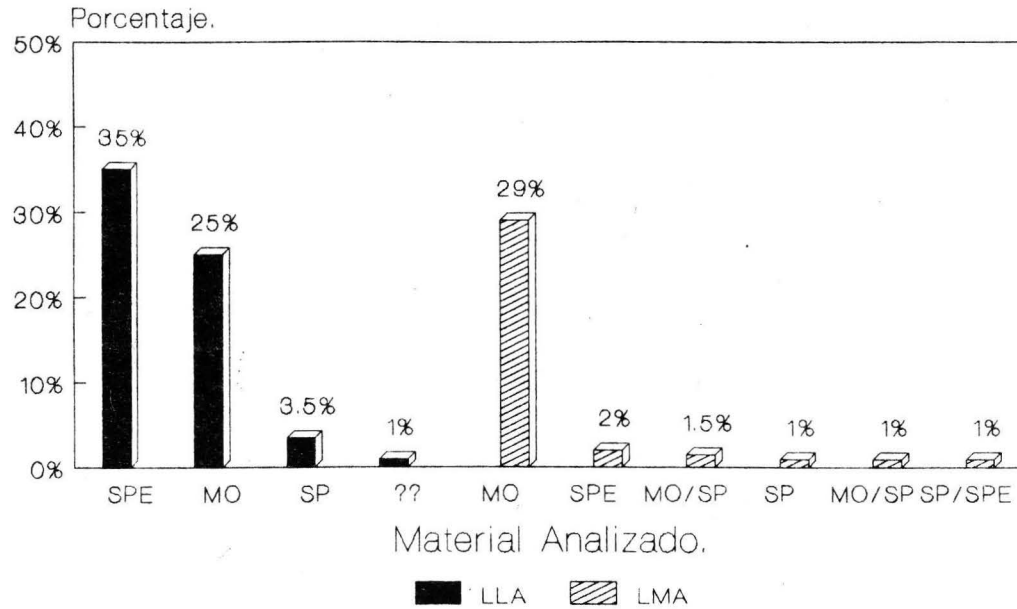
GRAFICA 4

ESTUDIO INMUNOFENOTIPICO



Bifeno. = Bifenotípica. S/R sin realizar
 ?? = Se desconoce el dato. No. R. = No se realiza.

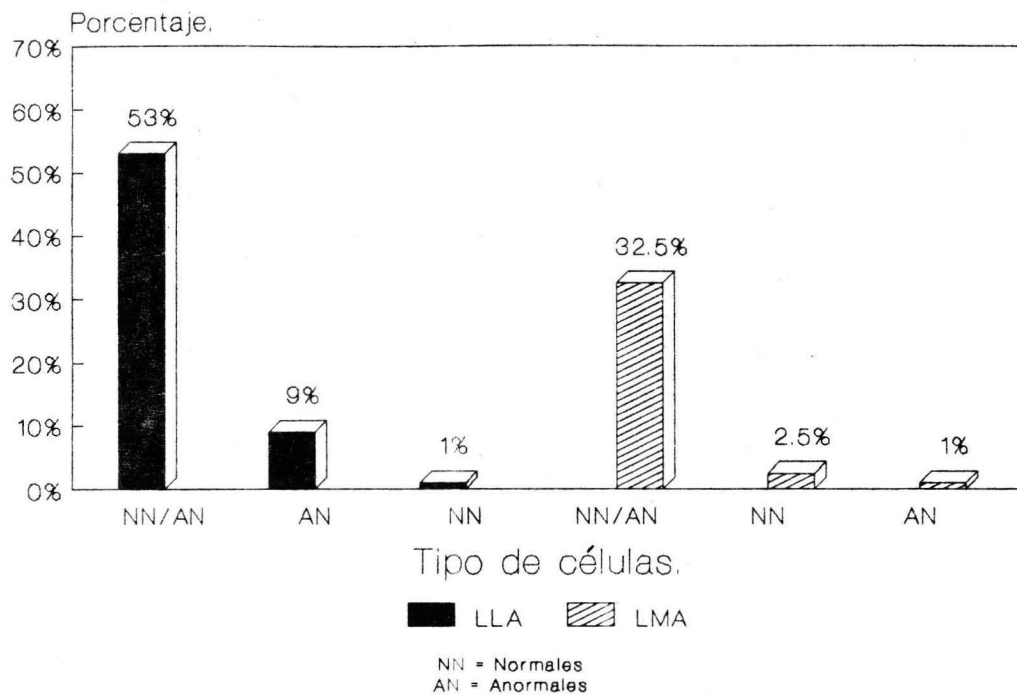
GRAFICA 5 MATERIAL ANALIZADO



MO = Médula Osea; SP = Sangre Périfrica
 SPE = Sangre Périfrica Estimulada
 ?? = Se desconoce el dato.

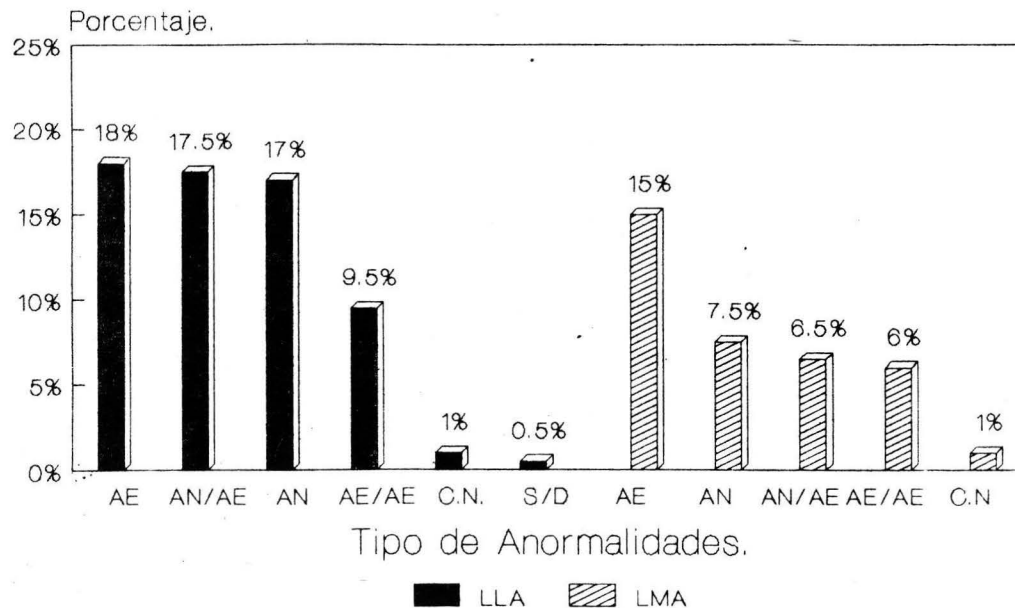
GRAFICA 6

TIPO DE CELULAS ANALIZADAS



GRAFICA 7

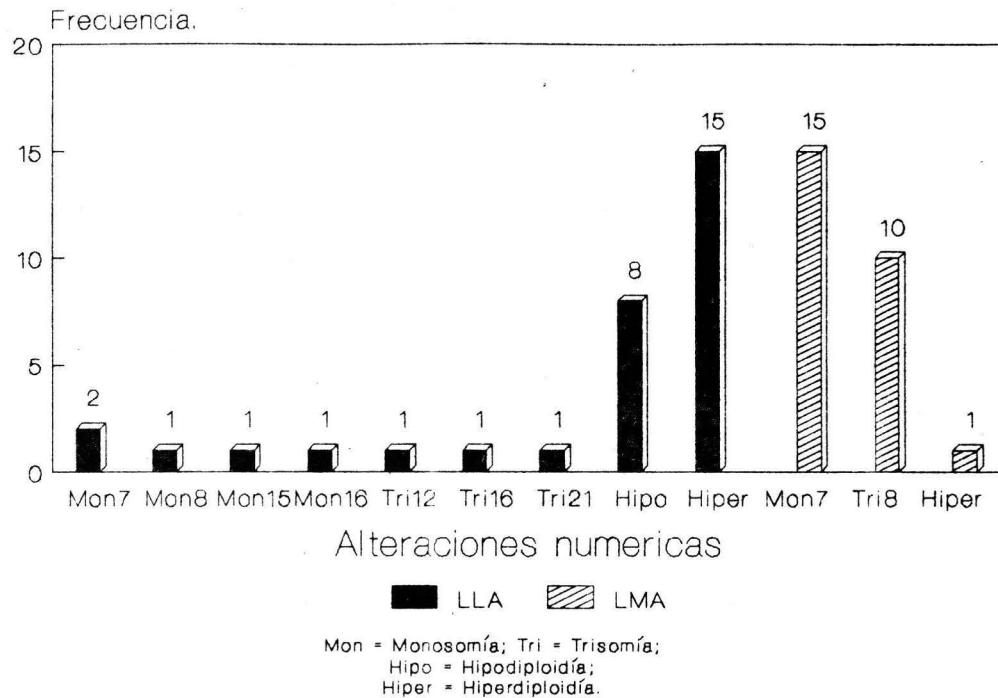
ANORMALIDADES CROMOSOMICAS



AN = Anormalidades Numéricas. S/D = Sin desarrollo. C.N. = Cariotipo Normal.
 AE = Anormalidades Estructurales.

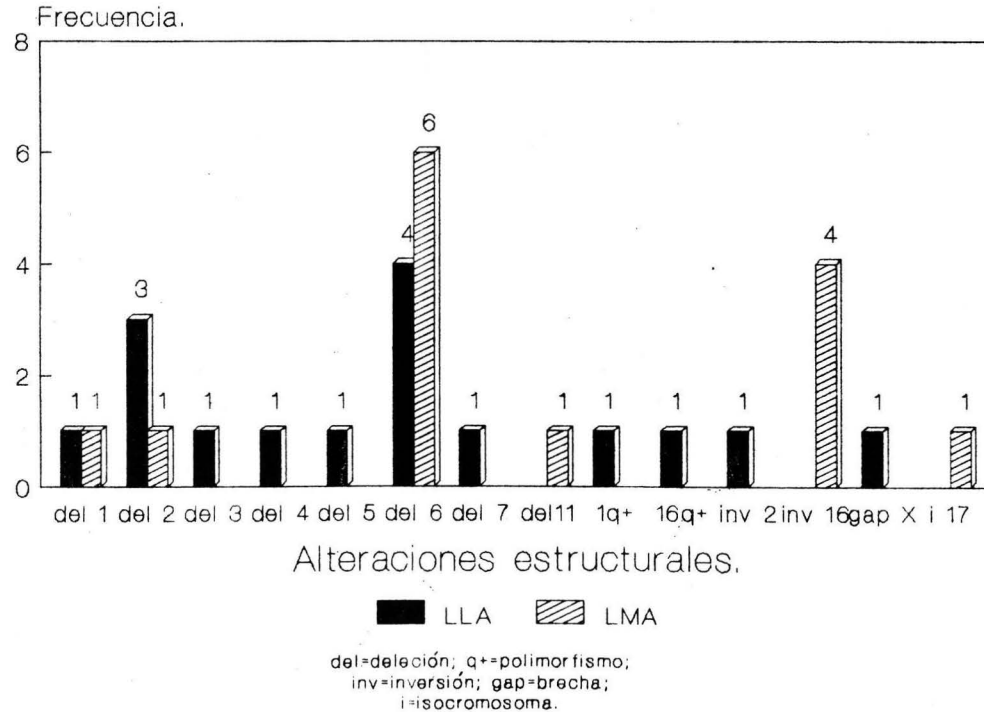
GRAFICA 8

ALTERACIONES NUMERICAS DE LLA Y LMA



GRAFICA 9

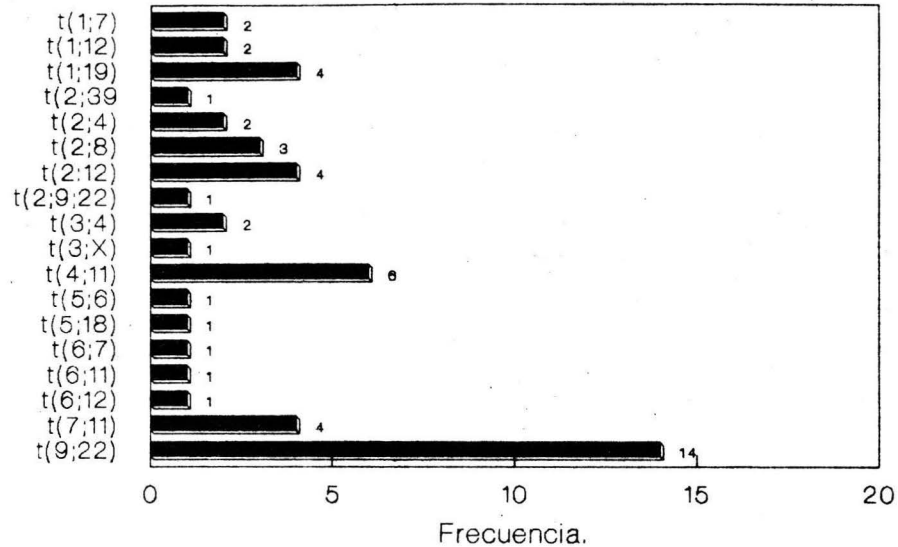
ALTERACIONES ESTRUCTURALES DE LLA Y LMA



GRAFICA 10

TRANSLOCACIONES DE LLA.

Translocaciones

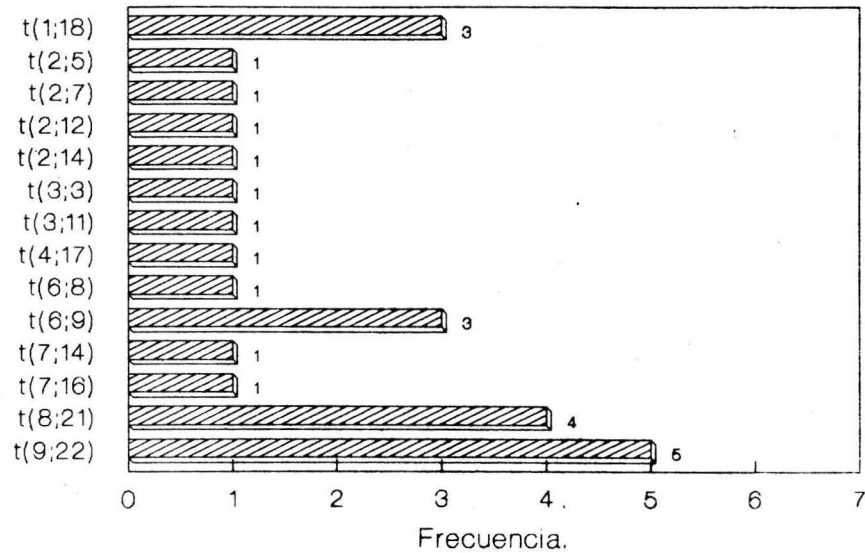


t = translocación

GRAFICA 11

TRANSLOCACIONES DE LMA.

Translocaciones



t = translocación

CAPITULO V

DISCUSION

En los datos obtenidos en las encuestas se pudo observar que en la población con Leucemia Aguda predominó la Linfoblástica (LLA) (64%) dentro de la cual 46.5% correspondieron a L2, 15% a L1 y un 2.5% a L3, lo que concuerda con un trabajo realizado por La Raza y cols. (250) en el Hospital General de México en donde se estudiaron pacientes con neoplasias hematológicas y en las cuales predominó L2 (40%), seguida de L1 (2%) y por último L3 (1%). Contrastando con lo reportado en la literatura (13,35,49) donde se menciona que las Leucemias Mieloblásticas son más comunes en la población adulta.

Se observó una incidencia mayor de LLA en la población masculina con respecto a la femenina, mientras que en LMA el número de casos encontrados en hombres y mujeres fué el mismo. Sin embargo, es necesario estudiar una mayor población para poder generalizar dicha relación.

El material analizado en 77% de los casos con LLA fue sangre periférica con o sin PHA y 61% de las muestras de LMA fue médula ósea. Con esto se podría establecer que para las LLA los mejores resultados se obtienen en cultivos de sangre periférica a 72 hrs. ya que independientemente de la adición de PHA el 93% de los casos presentaron alteraciones cromosómicas. En tanto en LMA los resultados obtenidos en médula ósea a 2 hrs y/o sangre periférica a 72 hrs no son tan claros, por lo que siempre es recomendable de ser posible trabajar con ambas muestras y comparar resultados.

En la mayoría de los pacientes se observó la presencia de células citogenéticamente normales las cuales son consideradas como un indicador pronóstico favorable. Debido a que se ha propuesto la necesidad de una clona normal para repoblar la médula ósea una vez que las células leucémicas han

sido eliminadas por quimioterapia (118). Por lo que podríamos esperar un pronóstico desfavorable para los pacientes sin clonas normales.

En el análisis citogenético se observó en 98% de los casos la presencia de clonas anormales. Esto contrasta con los reportes de la literatura (13,35,49) en donde únicamente 50 - 70% de los pacientes con leucemia aguda tienen defectos cromosómicos al ser analizados con técnicas estándares y solo este porcentaje tan elevado es encontrado con técnicas de alta resolución (14,15 135).

En los cariotipos de LLA las monosomías y trisomías se presentaron en 4% de la población estudiada, coincidiendo con lo reportado en el Primer Taller Internacional de Leucemias (151) en donde se reportaron los mismos porcentajes para la ganancia o pérdida de cromosomas. Las hiperdiploidías moderadas (47-49 cromosomas) se presentaron en pacientes con L1 o L2 indistintamente; esto coincide con lo establecido en el Tercer Taller Internacional de Leucemias (214); las hiperdiploidías severas (>50 cromosomas) se presentaron con mayor frecuencia en pacientes con L2 contrastando con lo reportado por Pui (216) quien establece que estas hiperdiploidías se asocian generalmente a pacientes con L1, lo cual nos hace proponer que la asociación de estas alteraciones numéricas asociadas a cierto subtipo morfológico de LLA varía de población a población y que puede depender de la etiología de la enfermedad.

Las hiperdiploidías en LLA se presentaron en un 6% coincidiendo con lo reportado (151,213) en donde se menciona que esta alteración numérica es esporádica, solo afecta del 3-10% de los pacientes y se encuentra asociada a L1 o L2 como se pudo apreciar en la población estudiada.

En cuanto a las alteraciones estructurales más frecuentes en LLA se presentó el cromosoma Ph' en 14 pacientes. Todos ellos producto de una t(9;22) a excepción del caso 78 en el que se encontró una translocación no usual

t(2;9;22)(q34;q34;q11) la cual es rara aún en LGC (79). En la mayoría de los casos el cromosoma Ph' se presentó como defecto primario y en 6 de ellos se observaron además otras alteraciones numéricas y/o estructurales como defectos secundarios.

En el caso 38 se halló una t(6;11)(q25;p15) como única anormalidad asociada a L2 que no ha sido descrita en la literatura. Es interesante señalar que los puntos de ruptura de este rearreglo se asocian a neoplasias hematológicas como LMA y Linfomas (13,126).

Otra anormalidad primaria que se presentó y que no ha sido reportada en la literatura es la t(1;7)(p13;q23) asociada a L2 e inmunofenotipo CALLA⁺ (casos 66 y 67), sin embargo los puntos de ruptura en el cromosoma 7 coinciden con rearreglos en LMA (13,221).

La del(6) asociada a L2 fué observada en un 7% de los casos de LLA, lo cual coincide con lo establecido en el Tercer Taller Internacional de Leucemias (214) donde se reportó esta alteración asociada a L2 como un cambio cromosómico relativamente común en LLA que aparece en 5-10% de los casos como anormalidad clonal.

La t(1;19)(q23;p13) se observó en los casos 26, 27, 64 y 65 (2%) asociada a L1 y con un inmunofenotipo de células pre-B, esta alteración asociada a esta morfología e inmunofenotipo ya ha sido reportada pero con una incidencia muy baja (4%) (225,227).

La t(4;11)(q21;q23) se presentó en los casos 33, 34, 35, 36, 37 y 82 (3%) la mayoría de los pacientes son adultos, mientras que esta anormalidad frecuentemente ha sido asociada a niños menores de un año (generalmente del sexo femenino) y neonatos. Por lo que se podría establecer que las anormalidades que en algunas poblaciones se observan en pacientes pediátricos en otros puede corresponder a personas adultas y que probablemente esto

influya en el proceso de desarrollo de la enfermedad y la respuesta al tratamiento,

En dos casos de LLA se presentaron polimorfismos cromosómicos [caso 49 (16qh+) y caso 50 (1qh+)], aún cuando no se sabe la participación de estas regiones en el desarrollo de las neoplasias, parecería que participan en el intercambio cromosómico por entrecruzamientos desiguales lo que produciría homo o hemicigocidad de genes implicados en la aparición de Leucemia (143).

El resto de las alteraciones cromosómicas observadas en LLA (Tabla X) tuvieron una frecuencia de 0.8-5% y se encuentran reportadas en el catálogo de cromosomas y cáncer (278).

En los cariotipos de LMA las alteraciones numéricas observadas fueron monosomía 7 (5.6%) asociadas a M2, M3 y M5, esta alteración ha sido reportada con un porcentaje menor a lo observado en nuestra población asociada a los subtipos M2 y M4 (153,159). Por lo que se puede establecer que la frecuencia y la asociación a cierta morfología puede variar de una población a otra. La trisomía 8 se presentó con un porcentaje de 14% asociada generalmente a M1 o M2 en nuestra población, mientras que en la literatura ha sido reportada por varios autores (148,154) con diferentes porcentajes y asociada a todos los subtipos morfológicos de LMA.

Otra alteración en LMA fue la hiperdiploidía observada solo en el caso 200, este tipo de anomalía es rara de encontrar en este tipo de leucemia y solo ha sido reportada esporádicamente (13).

La aberración estructural más frecuente en LMA como alteración primaria fue la t(9;22) (7%) asociada a todos los subtipos morfológicos, lo cual concuerda con lo reportado por Yunis (126) en donde observó un porcentaje de 8% como anomalía primaria asociada de M1 a M6. Pero contrasta con otros reportes (209) donde se especifica que el cromosoma Ph' como único rearrreglo

se presenta en 3% de los pacientes, citogenéticamente indistinguible de la $t(9;22)(q34;q11)$ específica de LGC, dicha translocación se asocia en 85% de los casos a M1 o M2 (208,209).

La $t(8;21)$ en LMA se observó con una frecuencia de 7% asociada a M2 y se presentó en jóvenes, concordando con lo reportado por el "Grupo Francais of Hematology and Cytogenetic" (168) en donde reportan un estudio en pacientes con $t(8;21)$ siendo todos adultos jóvenes y con una morfología M2.

Otra de las alteraciones observadas en LMA fue la $inv(16)$ que se presentó en 5.1% de los pacientes asociada a M4, esta aberración fue reportada en el Cuarto Taller Internacional de Cromosomas de Leucemias (153) con una frecuencia del 5% en los casos estudiados y asociada al subtipo morfológico M4, lo cual permitió crear un nuevo sub-grupo LMA-M4/ $inv(16)$ (44) para la clasificación del grupo MIC.

La $del(6)$ fue una de las alteraciones de LMA que se presentó con una incidencia alta del 6.4% asociada a diferentes subtipos morfológicos M1, M2, M3, M4 y M5 y a otras alteraciones secundarias de tipo numérico y/o estructural. Esta anomalía ha sido reportada (274) pero sin mencionar el porcentaje en que se encontró y si está asociada a algún subtipo morfológico del FAB.

Las otras alteraciones de tipo estructural observadas en bajo porcentaje de 1.4-4% ya han sido reportadas en el Catálogo de Cromosomas Y Cáncer (274), apareciendo también con una incidencia baja y ocurriendo solo ocasionalmente.

CAPITULO VI

CONCLUSIONES

En la mayoría de los trabajos realizados fuera del país se reportan las anomalías cromosómicas encontradas, asociadas a un subtipo morfológico del FAB y un inmunofenotipo específico, tratando de establecer un pronóstico de vida favorable o desfavorable según el caso, basándose en el seguimiento, tratamiento y edad de pacientes estudiados anteriormente con el mismo tipo de alteración.

En la población estudiada esto no se pudo realizar pues en la mayoría de las Instituciones en que nos proporcionaron los datos, en ocasiones es imposible llevar un seguimiento del paciente, debido a que algunos acuden en etapas terminales de la enfermedad, otros no regresan pues son gente de un medio socio-económico bajo, además no cuentan con los recursos necesarios para presentarse al centro hospitalario cuando son requeridos. Sin embargo, en otros casos aunque el paciente sea diagnosticado en etapas tempranas, la Institución carece de recursos para proporcionar el tratamiento adecuado en forma periódica, lo que ocasiona una progresión más rápida de la enfermedad y en consecuencia una sobrevida más corta. Por lo que pensamos que sería recomendable el establecimiento de protocolos bien fundamentados así como la obtención de apoyos económicos gubernamentales o de empresas privadas para crear centros bien capacitados para la atención de pacientes con problemas de todo tipo de cáncer, ya que los que existen no satisfacen la demanda de la población que sufre este tipo de padecimientos.

Por otra parte la incidencia de las anomalías citogenéticas en Leucemias Agudas fue del 98%, pero fue imposible comparar estos datos con valores anteriores ya que no existen estudios estadísticos ni epidemiológicos

de neoplasias en la población de México. Impidiendo elaborar hipótesis acerca de la etiología causante de las alteraciones citogenéticas en los pacientes.

La única estadística existente en el Instituto Nacional de Epidemiología S.S.A. es sobre los tumores malignos más frecuentes durante el período de 1983-1986 en donde indican que las leucemias ocupan el cuarto lugar en varones y el quinto en mujeres por cada 100 000 habitantes, sin embargo, como no hubo un seguimiento, no fue posible correlacionar estos datos con los valores obtenidos en este estudio.

Por lo que creemos es necesario tratar de llevar un registro mensual o semestral en todas la Instituciones a nivel hospitalario o clínico para que estos datos sean recolectados anualmente y tener una estadística real y confiable en el área metropolitana y posteriormente a nivel del país. Sugerimos que se formen equipos multidisciplinarios para tratar de establecer una clasificación morfológica-inmunológica-citogenética de las leucemias más frecuentes en nuestra población, así como encontrar las causas reales que ocasionan estas alteraciones citogenéticas y de esta manera el especialista pueda ofrecer al paciente un mejor tratamiento y por lo tanto una mejor calidad de vida.

Es importante señalar que los trabajos reportados en la literatura se han realizado en su mayoría en el extranjero (USA), existiendo grandes diferencias geográficas, socio-económicas y étnicas en relación a nuestra población. Lo que dificulta una correlación entre los hallazgos citogenéticos y los parámetros clínicos de nuestros pacientes cuando se comparan con la literatura.

APENDICE.

METODOS CITOGENETICOS.

Cariotipo de Médula Osea.

1. Agregar 0.5 a 1.0 ml de aspirado de médula ósea heparinizado a un frasco de vidrio o tubo cónico, el cual lleva 10 ml. de la siguiente solución: 9 partes de KCl 0.075 M más una parte de solución tripsina-EDTA al 0.25% más colchicina a una concentración final de 0.08 g/ml.
2. Esta suspensión de células se incuba a 37°C durante 30 min se vacía a tubos cónicos de centrifuga de 15 ml para centrifugar a 3,000 rpm durante 5 min
3. Decantar el sobrenadante y resuspender el botón, fijar en metanol-ácido acético 3:1 fresco. Dejar reposar 30 min a temperatura ambiente.
4. Centrifugar a 3,000 rpm durante 5 min y resuspender de nuevo en fijador. Repetir cuantos cambios sean necesarios (10 aprox.).
5. Las preparaciones se hacen goteando la suspensión de células a una altura de 1.50 m. sobre el portaobjetos, obteniéndose mejores resultados a la flama. Se tiñen con Giemsa (3 ml de Giemsa + 47 ml de amortiguador de fosfatos pH 6.8) durante 5-8 min.
6. Se observan al microscopio y se analizan.
7. Parte de las laminillas se someten a técnicas de bandas G para tener un análisis más preciso.

Cariotipo en Linfocitos de Sangre Periférica.

1. Las muestras de sangre se toman en condiciones estériles en jeringa heparinizada.
2. Colocar 0.5 ml de sangre en 4.5 ml de medio de cultivo (McCoy 5a) suplementado con suero fetal de ternera (0.5 ml) y antibióticos (penicilina

2,000 U/ml+ estreptomicina 275 mg/ml). Las muestras se trabajan por duplicado adicionando solo a uno de los frascos el mitógeno (fitohemaglutinina M).

3. Incubar a 37°C durante 70.5 hrs. Adicionar 0.5 ml de solución de colchicina al 0.2% (en agua destilada estéril) e incubar a 37°C por 1.5 hrs.

4. El cultivo se transfiere a tubos cónicos de centrifuga de 15 ml para centrifugar a 3,000 rpm durante 5 min.

5. Decantar el sobrenadante y resuspender el botón. Agregar 5 ml de solución hipotónica (KCl 0.075 M.) a 37°C agitando en el vortex. Dejar reposar durante 30 min a 37°C.

6. Centrifugar a 3,000 rpm durante 5 min decantar el sobrenadante y agregar gota a gota y agitando en el vortex 5 ml de fijador recién preparado (metanol-ácido acético 3:1). Dejar reposar 30 min a temperatura ambiente.

7. Centrifugar a 3,000 rpm durante 5 min decantar el sobrenadante y resuspender en 5 ml de fijador. Repetir esta operación cuantas veces sea necesario hasta obtener un botón blanco y un sobrenadante claro (5 veces aproximadamente).

8. Para hacer las preparaciones decantar el sobrenadante y adicionar 10 gotas de fijador para resuspender. Tomar con la pipeta Pasteur y dejar caer 2-3 gotas sobre cada laminilla perfectamente limpia y desengrasada desde una altura de 20 cm. Dejar secar al aire.

9. Teñir con Giemsa durante 5 min (3 ml de Giemsa + 47 ml de amortiguador de fosfatos pH 6.8). Lavar con agua corriente y dejar secar.

10. Observar al microscopio. Si las metafases están muy cerradas se pueden abrir haciendo las laminillas desde una altura mayor o dando más cambios al fijador. En ocasiones es necesario hacer las laminillas a la flama (sobre porta-objetos bañados en alcohol al 70% y pasando por la flama para secar). Si por el contrario las metafases están rotas, es posible refrigerar el botón

para que se cierren las mitosis durante toda la noche y posteriormente hacer las laminillas.

Cultivo de Linfocitos de Sangre Periférica con Técnica de Alta Resolución.

1. Las muestras de sangre se toman en condiciones estériles en jeringa heparinizada.
2. En un tubo de polipropileno se pone 4.5 ml de medio de cultivo RPMI 1640 suplementado con suero fetal de ternera (0.5 ml) y antibióticos (penicilina 2,000 U/ml+ estreptomicina 275 mg/ml). Las muestras se trabajan por duplicado adicionando a uno de los frascos 0.5 ml de mitógeno (fitohemaglutinina M) y al otro tubo 50 μ l. Agregar 1 ml de sangre a cada tubo, mezclar bien. Incubar a 37°C por 72 hrs.
3. Adicionar metotrexate 2.5 mg/ml a una concentración final de 10^7 (10 μ l de una solución 10^5 por cada 5 ml de cultivo) para inducir sincronía. Mezclar bien e incubar a 37°C por 17 hrs.
4. Centrifugar a 1100 rpm por 8 min. Decantar el sobrenadante, adicionar 5 ml de solución de Hank y resuspender las células por inmersión. Centrifugar a 1100 rpm. por 8 min. Repetir el lavado.
5. Decantar el sobrenadante y agregar 5 ml de medio RPMI 1640 conteniendo BdrU (100 μ l a 2×10^{-5} M). Incubar a 37°C durante 5 hrs.
6. Adicionar colchicina 0.002% a una concentración final 0.05 ml/ml (50 μ l por cada 5 ml de medio de cultivo). Incubar por 30 min.
7. El cultivo de transfiere a tubos cónicos de centrifuga de 15 ml para centrifugar a 3,000 rpm durante 5 min.

8. Decantar el sobrenadante y resuspender el botón. Agregar 5 ml de solución hipotónica (KCl 0.075 M) a 37°C agitando en el vortex. Dejar reposar durante 30 min a 37°C.
9. Centrifugar a 3,000 rpm durante 5 min decantar el sobrenadante y agregar gota a gota y agitando en el vortex 5 ml de fijador recién preparado (metanol-ácido acético 3:1). Dejar reposar 30 min a temperatura ambiente.
10. Centrifugar a 3,000 rpm durante 5 min decantar el sobrenadante y resuspender en 5 ml de fijador. Repetir esta operación cuantas veces sea necesario hasta obtener un botón blanco y un sobrenadante claro (5 veces aproximadamente).
11. Para hacer las preparaciones decantar el sobrenadante y adicionar 10 gotas de fijador para resuspender. Tomar con la pipeta Pasteur y dejar caer 2-3 gotas sobre cada laminilla perfectamente limpia y desengrasada desde una altura de 20 cm dejar secar al aire.
12. Teñir con Giemsa durante 5 min (3 ml de Giemsa + 47 ml de amortiguador de fosfatos pH 6.8). Lavar con agua corriente y dejar secar.
13. Se observan al microscopio, se analizan fotografiándose las mejores prometáfases.
14. Parte de las laminillas se someten a técnicas de bandas G para un análisis preciso.

Bandas G.

1. Las preparaciones cromosómicas se secan al aire y se dejan envejecer durante una semana. Se colocan las laminillas por aproximadamente 10 seg o más, según cada caso, en una solución que contiene 3 ml de solución de tripsina al 1% + 47 ml de amortiguador de fosfatos pH 6.8 en baño maría a 37°C.

2. Se lavan con solución salina isotónica y posteriormente en agua corriente. Se tiñen durante un minuto en Giemsa (3 ml de Giemsa + 47 ml de amortiguador de fosfatos pH 6.8). Nuevamente se lavan en agua corriente y se secan al aire.
3. Se analizan al microscopio y se seleccionan metafases bien bandeadas para fotografía.

Bandas C.

1. Colocar las laminillas en HCl 0.2 N por 15 a 30 min.
2. Lavar con agua destilada.
3. Colocar en Ba(OH)₂ (0.0065 M) a 37°C por 15 a 30 min.
4. Lavar con agua destilada a 37°C.
5. Colocar las laminillas en 2XSSC (8.82 g de citrato de sodio + 17.53 g de NaCl en 1000 ml de agua destilada) a 60°C y durante 2 hrs.
6. Lavar con agua destilada a 60°C y con agua corriente.
7. Teñir con Giemsa (3 ml de Giemsa + 47 ml de amortiguador de fosfatos pH 6.8).
8. Observar y analizar al microscopio.

GLOSARIO

Aberración cromosómica. Alteración citogenética de un cromosoma, puede ser de tipo estructural o numérico.

Acidos nucleicos. Son aquellos que contienen la información genética el Acido Desoxirribonucleico (ADN) y Acido Ribonucleico (ARN).

Adenovirus. Grupo de virus causantes de una enfermedad respiratoria aguda, de una fiebre faringoconjuntival y de una queratoconjuntivitis epidémica.

Agente promotor. Segmento específico del ADN al cual se une la ARN polimerasa para iniciar la transcripción del mRNA.

Agentes quelantes. Son los que se encargan de separar iones inorgánicos incorporándolos a complejos orgánicos no disociables.

Alteración estructural. Alteración que sufre un cromosoma en su estructura, pudiendo ser una delección, translocación, inversión etc.

Alteración numérica. Variaciones en el número de cromosomas en una célula que impliquen múltiplos del número haploide denominadas euploidias, o cambios en los cuales solo uno o algunos cromosomas estén implicados, a los que se conoce como aneuploidias.

Amplificación génica. Proceso por el cual una secuencia génica se selecciona para replicación diferencial, ya sea extra o intracromosómicamente.

Anemia de Fanconi. Entidad autosómica recesiva con anomalías esqueléticas, falla de la médula ósea que origina pancitopenia y que presenta alteraciones cromosómicas y propensión al cáncer.

Aneuploidia. Número cromosómico el cual no es un múltiplo exacto del número haploide.

Anillo. Cromosoma circular que ha sufrido delección de los extremos de sus brazos.

Anticuerpos monoclonales. Anticuerpos que son generados desde una línea celular plasmática única y producida en contra de un epitope única de un antígeno específico; provee un alto nivel de especificidad.

Antígeno. Una proteína extraña, macromolécula o ambas que generan una respuesta inmune que resulta en la producción de anticuerpos específicos.

Ataxia Telagantaxia. Síndrome que aparece durante la infancia, de desarrollo progresivo y se caracteriza por anormalidades en el crecimiento, en el Sistema Nervioso Central y el Inmune.

Bandas. Secuencia de porciones claras y oscuras, o fluorescentes y no fluorescentes, que se observan a lo largo del cromosoma con los distintos procedimientos de tinción.

Bases Nitrogenadas. Compuestos orgánicos que contienen nitrógeno, carbono, oxígeno e hidrógeno y que constituyen parte de los ácidos nucleicos. Son purinas (adenina y guanina) y pirimidinas (timina, citocina y uracilo).

Basófilos. Elemento que se tiñe fácilmente con los colorantes básicos. Relativo a la basofilia.

Bifenotípica. Presenta dos fenotipos.

Biología Molecular. Ciencia que se encarga del desarrollo de la tecnología que hace posible el análisis y manipulación de macromoléculas, principalmente ácidos nucleicos y proteínas.

CALLA. Antígeno común de la Leucemia Linfoblástica Aguda.

Carcinógenos. Agentes causantes de los diversos tipos de cáncer.

Cariotipo. Serie de cromosomas de un individuo. El término se utiliza a menudo para la designación de microfotografías de los cromosomas dispuestos según una clasificación estándar.

Cáncer. Transformación maligna de las células de cualquier sistema.

Centrómero. Heterocromatina constitutiva situada en el interior de un cromosoma y al que se le unen las dos cromátides. El centrómero ocupa una posición característica en todo cromosoma. Es la última parte del cromosoma que se divide y por medio de la cual se fija al huso.

Célula multipotencial. Célula madre que se divide para dar nuevas células.

Células hemáticas. Células sanguíneas.

Citogenética. Estudio de la relación existente entre el aspecto microscópico de los cromosomas y el modo de conducirse durante la división celular, con el genotipo y el fenotipo que presenta el individuo.

Clona. Población celular que se ha derivado de una simple célula.

Código genético. Tripletas de bases de ADN y ARN portadores de la información genética.

Codón. Triplete de tres bases, en una molécula de ADN o ARNm, que codifica un aminoácido específico.

Colchicina. Alcaloide derivado de *Colchicum autumnale* que impide la formación del huso acromático y que detiene la división mitótica en metafase.

Congénito. Existente al nacer; no necesariamente genético.

Cromatina. Porción más coloreable del núcleo celular que forma una red de fibrillas.

Cromosoma Filadelfia Ph⁺. Cromosoma que se encuentra en la leucemia mieloide crónica y que corresponde a la translocación (9;22)(q34;q11).

Cromosomas Sexuales. Cromosomas causantes de la determinación del sexo. (En los seres humanos XX en la mujer; XY en el varón).

Cuerpo de Auer. Cuerpos en forma alargada que se observan en los linfocitos en ciertos casos de leucemia.

De novo. Expresión que se utiliza cuando alguna alteración cromosómica es de reciente formación.

Deleción. Forma de aberración de cromosomas, en la cual se pierde una parte de estos.

Derivado. Se le denomina al fragmento extra de algún cromosoma.

Dishematopoyético. Alteración en la formación de la sangre.

Disyunción. Separación de cromosomas entre la metafase y la anafase de la división celular.

Duplicación. Presencia de genes repetidos en un cromosoma por la adición de un fragmento de un cromosoma homólogo.

Efecto "Hot-Pot". Regiones del ADN que se encuentran sensibles y en las que puede unirse un vector biológico.

"Enhancer". Potenciador que se encarga de incrementar la utilización de promotores de transcripción, esto ocurre por el mecanismo de acción de secuencias virales amplificadas.

Eosinofilia. Formación y acumulación de un número extraordinario de células eosinófilas en la sangre; presencia de numerosos leucocitos eosinófilos.

Epitope. Región del antígeno que interactúa con un anticuerpo dado.

Eritremia. Enfermedad por aumento de glóbulos rojos de la sangre, debido a la producción excesiva de eritroblastos por la médula ósea.

Eritroblasto. Célula nucleada e incolora de la médula ósea, origen del glóbulo rojo, que comprende los microblastos, megaloblastos y normoblastos.

Eritroleucemia. Combinación de Eritremia y Leucemia.

Esplenomegalia. Aumento de volumen o hipertrofia del bazo.

Etiología. Parte de la medicina que tiene por objeto el estudio de las causas de las enfermedades.

Exón. Segmento de un gen que permanece después de la unión del ARN de transcripción primaria y estos están representados en el ARN sintetizado. El exón está compuesto de secuencias 5' no traducidas, de secuencias codificantes y secuencias 3' no traducidas.

FAB. Clasificación Franco-American-Británica que se estableció en 1981 para unificar criterios en la determinación de los tipos de Leucemias.

Fibroblasto. Célula alargada plana de tejido conjuntivo que constituye el elemento de los tejidos fibrosos.

Fitoheماغlutinina. Sustancia extraída del frijol (*Phaseolus vulgaris*) que estimula la división mitótica de los linfocitos transformándolos en linfoblastos.

Fragmento acéntrico. Fragmento cromosómico que carece de centrómero.

Gametogénesis. Formación de gametos, masculino (espermatozoides) y femeninos (óvulos).

Ganglios linfáticos. Son variables en tamaño, forma, color. Su diámetro oscila entre uno y veinte mm. o más. Con frecuencia tiene una forma arrionada o similar a un frijol, pueden ser desde elipsoides hasta esféricos. Se disponen en grupos, a veces se encuentran aislados, con frecuencia se agrupan a lo largo del trayecto de los vasos sanguíneos.

Gap. Brechas que aparecen en los cromosomas y no tiñen.

Gemelos dicigotos. Gemelos producidos por dos óvulos separados, fecundados por dos espermatozoides distintos.

Gemelos monocigotos. Gemelos derivados de un sólo óvulo fecundado.

Gen. Porción de una molécula de ADN codificada para la síntesis de una determinada cadena de polipéptido.

Genoma. Todos los genes que existen en una serie haploide de cromosomas

Genotóxicos. Agentes iniciadores o carcinógenos que causan daño al ADN.

Giemsa. Colorante que es utilizado para la tinción de cromosomas

Granulocitos. Célula que contiene gránulos especialmente los leucocitos que contienen gránulos basófilos o eosinófilos en su protoplasma.

Granulopoyesis. Formación de granulocitos.

Haploide. Cantidad de material cromosómico de un gameto. Equivale a la mitad del de una célula somática.

Hemoproteínas. Proteínas hemolíticas.

Hepatoesplenomegalia. Aumento de volumen en el hígado.

Heterocigoto. Individuo que tiene dos alelos diferentes en un determinado locus de un par de cromosomas homólogos.

Heterocromatina. Cromatina condensada, heteropignótica, que no participa en el proceso de transcripción. Puede ser facultativa o constitutiva.

Heterogeneidad. Diferentes genotipos pueden producir fenotipos similares.

Hibridación *In situ*. Se refiere a la localización del ADN individual en células intactas y tejidos usando métodos de ácidos nucleicos marcados que son complementarios al ARNm en estudio.

Hiperdiploidia. Número de cromosomas mayor al diploide.

Hipertiroidismo. Conjunto sintomático debido a la actividad exagerada de la glándula tiroides

Hipodiploidia. Número de cromosomas menor al diploide.

Homocigoto. Individuo que posee un par de alelos idénticos en un determinado locus de un par de cromosomas homólogos.

In útero. Literalmente en útero. Que se desarrolla la vida dentro del útero.

In vitro. Literalmente en vidrio. Que vive fuera del organismo teniendo un desarrollo artificial.

Inmunofenotipo. Fenotipo basado en la utilización de agentes inmunológicos.

Inmunoglobulina. Glucoproteína compuesta de cadenas ligeras y pesadas, funciona como anticuerpo. Todos los anticuerpos son inmunoglobulinas, pero no todas las inmunoglobulinas tienen función de anticuerpo.

Inserción. Cuando ocurre rompimiento de un fragmento en un cromosoma, y este se inserta o se pega en otro cromosoma.

Intrón. Porción del ADN que se transcribe a ARNm pero que es eliminada enzimáticamente de esta molécula, antes de que este pase al citoplasma y se traduzca.

Inversión. Se produce una inversión cuando un segmento cromosómico rota 180° sobre sí mismo y se coloca en el cromosoma en forma invertida, quedando la secuencia de genes alterada.

Inversión paracéntrica. Es aquella que no incluye en el segmento invertido al centrómero.

Inversión pericéntrica. Es aquella que en el segmento invertido incluye al centrómero.

Isocrosoma. Es cuando el centrómero del cromosoma en vez de dividirse longitudinalmente lo hace en forma transversal.

Leucemia. Enfermedad neoplásica maligna que se caracteriza por una proliferación desordenada de las células sanguíneas o sus precursores. Debido a que las células leucémicas no maduran, mantienen su capacidad de dividirse y no pueden llevar a cabo sus funciones normales, por lo cual el resultado es la abundancia de un sólo tipo celular.

Leucemia Linfoblástica. Enfermedad neoplásica maligna que se caracteriza por una proliferación desordenada de los linfoblastos.

Leucemia Mieloblástica. Enfermedad neoplásica maligna que se caracteriza por una proliferación desordenada de los mieloblastos.

Leucemogénesis. Inicio o principio de leucemia.

Leucocito. Glóbulo blanco de la sangre; célula incolora capaz de movimientos ameboides que se encuentra en la sangre, pus, linfa o errante por los tejidos conjuntivos. Diámetro que varía de 0.005 a 0.015mm en la sangre normal se encuentran dos grandes variedades granulosa y no granulosa. En los primeros se distinguen los basófilos, neutrófilos y eosinófilos, y en los segundos los linfocitos.

Linfoadenopatía. Término general para las enfermedades del sistema linfático.

Linfoma. Tumor formado de tejido linfático o adenóide con tendencia a la generalización.

Linfomas de Burkitt. Linfoma caracterizado por la presencia de células linfáticas de tipo anormal.

Locus. Lugar de un gen en un cromosoma dado.

Loci. Plural de locus.

Lyonización. Viene de la hipótesis de Lyon, que dice que en la mujer normal únicamente uno de sus cromosomas X está activo en las células somáticas.

Mapeo. Ubicación de genes en bandas cromosómicas.

Marcador génico. Gen fácil de identificar, que puede usarse en el estudio de las familias y poblaciones.

Marcadores celulares. Sustancia inmunofluorescente que se utiliza para marcar un organelo o compuesto específico de la célula.

Megacariocito. Célula gigante (30-40 u) de la médula ósea caracterizada por su voluminoso núcleo lobulado.

Metafase. Período de la mitosis o meiosis, durante el cual los cromosomas se alinean en la placa ecuatorial.

Metotrexato. Anticancerígeno, que es utilizado en las técnicas de cultivo de alta resolución para la obtención de cromosomas prometáfásicos.

Médula ósea. Tejido blando y graso que se halla dentro de los huesos.

Mieloperoxidasa. Hemoproteína de naturaleza enzimática que cataliza la oxidación por peróxido en una gran variedad de sustancias.

Mitógeno. Sustancia que estimula la mitosis de las células.

Mitosis. División de la célula somática de la que resulta la formación de dos células hijas; cada una de estas posee el mismo complemento de cromosomas que la célula madre.

Monoclonal. Células derivadas de una misma línea celular.

Monosomía. Existencia de un solo cromosoma homólogo o pérdida de un segmento de un cromosoma homólogo (parcial).

Mutación. Cambio en la secuencia de bases nitrogenadas en la molécula de ADN. Variación espontánea o inducida del genoma.

Mutación puntual. Reemplazamiento de una base por otra en el ADN.

Mutación letal. Gen que produce un gameto no viable o que impide el desarrollo embrionario.

Neonato. Recién nacido.

Neoplásico. Formación de tejido nuevo de carácter tumoral.

No disyunción. Incapacidad de separarse de uno o más miembros de un par de cromosomas durante la anafase de la división celular, por lo que ambos pasan a la misma célula hija.

Nódulos linfáticos. Ganglios linfáticos.

Nucleólo. Corpúsculo denso, localizado en el núcleo, y donde se produce el ARN ribosomal.

Nucleótido. Monómero constituido por una base, un azúcar pentosa y un grupo fosfato. Una molécula de ácido nucleico está formada por gran número de tales nucleótidos, unidos por medio de enlaces azúcar-fosfato.

Oncogenes. Genes relacionados con el fenómeno de la transformación neoplásica que tienen similitudes estructurales y funcionales con los factores de crecimiento y sus receptores.

"p". Letra con que se designa al brazo corto del cromosoma

Patogénesis. Origen y desarrollo de las enfermedades.

Ploidía. Término referente al número normal de cromosomas en cariograma o un número múltiplo de estos en un cariotipo.

Policitemia. Término que se utiliza para referirse indiscriminadamente a todas las variedades de aumento absoluto o relativo en número de glóbulos.

Potenciadores. Secuencias de bases en el ADN a la cual se une la ARN polimerasa para iniciar la transcripción.

Proliferación. Formación de nuevas células.

Prometafásico. Primer período de la división celular, durante el cual los cromosomas se hacen visibles como estructuras discretas, más tarde sufren un proceso de engrosamiento y acortamiento.

Pronóstico. Juicio más o menos hipotético acerca de la terminación probable de una enfermedad, especialmente en un individuo determinado. Esto se realiza tomando en cuenta los signos y síntomas que permiten prever un resultado.

Proto-oncogen. Genes normales que codifican una serie de proteínas, las cuales desempeñan funciones importantes para las células como actividad de tirosina-cinasa, factores de crecimiento o receptores de hormona.

Pseudodiploide. Células que contienen un número cromosómico aparente normal, pero que presenta aberraciones estructurales.

"q". Letra para designar el brazo largo del cromosoma.

Quimioterapia. Tratamiento a base de fármacos y radiaciones.

Quinacrina. Fluorocromo cuya incorporación revela las bandas Q.

Recaída. Reaparición de la enfermedad.

Regiones pericentroméricas. Son la regiones que se encuentra alrededor de los centrómeros de cada cromosoma.

Remisión. Disminución de las células malignas.

Retrovirus. Virus oncogénico de ARN que posee la enzima transcriptasa reversa o inversa que le permite verter la información a ADN.

Rocetas eritrocíticas. Es la unión de un linfocito con varios eritrocitos. En la actualidad se utilizan para identificar linfocitos T.

Ruido citogenético. Falla en la manipulación de las técnicas, que trae como consecuencia resultados falso positivos.

Sarcoma. Tumor maligno formado de un tejido semejante al conjuntivo embrionario, compuesto de numerosas células apretadas estrechamente incluidas en una sustancia fibrilar y homogénea.

Sarcoma de Rous. Mioplasia sarcomatoide de las aves de corral, de las que se obtiene un virus que inyectado en otras aves reproduce el tumor.

Signos. Fenómeno, carácter, síntoma objetivo de una enfermedad o estado que el médico reconoce o provoca.

Síntoma. Manifestación de una alteración orgánica o funcional apreciable por el médico o por el enfermo.

Sistema inmune. Aquél que protege natural o artificialmente contra una enfermedad determinada.

Sitio frágil. Sitios que aparecen en los cromosomas y que no tiñen, dando un aspecto de brechas o gaps.

Síndrome de Bloom. Se caracteriza por talla baja, alteraciones craneofaciales como son, microcefalia, hipoplasia maxilar y generalmente su desarrollo se presenta durante el primer año de vida. Es de herencia autosómica recesiva.

Sobrevida. Tiempo que vive una persona después de la enfermedad.

Solución hipotónica. Solución baja en sales, que se utiliza para provocar un rompimiento de membranas celulares.

Síndrome de Turner. Síndrome de baja talla, amenorrea primaria y esterilidad, con cariotipo 45,X, mixoploidia o alteración estructural del X.

Tetrarradiadas. Se dice cuando los cromosomas adquieren la forma de tétradas.

Timo. Órgano glandular endocrino transitorio, propio de la infancia, del que solo quedan vestigios adiposos a los 10 o 12 años, situado en la parte inferior del cuello y superior del mediastino anterior formado por dos lóbulos alargados, compuesto cada uno de ellos por una serie de lobulillos, dispuestos alrededor de un eje o cordón conjuntivo. Cada lobulillo se halla dividido por un tabique de tejido conjuntivo en folículos formados de una sustancia cortical y otra medular con linfocitos, leucocitos y corpúsculos de Hassall.

Tinción. Técnica que se utiliza para teñir preparaciones citológicas y contrastar estructuras celulares.

Transcriptasa reversa. Una enzima que cataliza la síntesis de ADN a partir de un molde de ARN.

Transfección. Incorporación a una célula de ADN o ARN aislado de un virus.

Transformación Maligna. Alteración celular de los tumores que se desarrollan rápidamente con tendencia a la invasión de los tejidos y cuya gravedad va en aumento.

Translocación. Intercambio de segmentos entre cromosomas.

Translocación balanceada. Puede ser recíproca o no, y puede involucrar cromosomas homólogos o no.

Tripsina. Enzima proteolítica que actúa sobre las proteínas y el ADN, formando un patrón de bandas a lo largo del cromosoma.

Trirradiadas. Forma que toman los cromosomas, pareciendo que tienen tres cromátides.

Trombocitosis. Producción de plaquetas sanguíneas.

Yuxtaposición. Posición inmediata o adyacente; aposición.

CAPITULO VII.

REFERENCIAS.

1. Williams, J. (1983) "Hematología" 2th ed. Salvat. Barcelona. 1475p.
2. Leavell, B. (1983) "Hematología clínica" 4th. ed. Interamericana. México. 340p.
3. Virchow, R. (1846) "Weisses blut und milztumoren". Med. Ztg. 15:157-62.
4. Boveri, T. (1914) "Zur frage der entstehung maligner tumoren gustav fischer". Jena 1:64.
5. Hsu, T. (1979) "Human and mammalian cytogenetics. An historial perspective". Spring Verlag New York.
6. Tjio, J., et al. (1956) "The chromosome number of man". Hereditas 44:1-6.
7. Nowell, P. (1960) "Phytohemagglutinin: And initiator of mitosis in cultures of normal human leukocytes". Cancer Res. 20:462-463.
8. Moorhead, P., et al. (1960) "Chromosome preparations of leukocytes cultures of normal human peripheral blood". Exp. Cell. Res. 20:613-616.
9. Nowell, P., et al. (1960) "A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia". Science 132:1497-1510.
10. Caspersson, T., et al. (1970) "Identification of chromosomes by DNA-binding fluorescent agents". Chromosoma 20:215-227.
11. Fitzgerald, P., et al. (1982) "Direct versus cultured preparation of bone marrow cells from 22 patients with acute myeloid leukemia". Human Genet. 60:281-283.
12. Prieto, F. (1988) "Citogenética en hematología". 2a ed. Doyma España 61-71.
13. Heim, S., et al. (1987) "Cancer cytogenetics". Alan R. Liss. New York 1-309.
14. Yunis, J. (1976) "High resolution of human chromosomes" Science 191:1268-1270.
15. Yunis, J. (1982) "Comparative analysis of high-resolution chromosome techniques for leukemic bone marrow". Cancer. Genet. Cytogenet. 7:43-50.
16. Emery, F. (1984) "An introduction to recombinant DNA". John Wiley & Sons, New York 375p.
17. Novales, C., et al. (1989) "Sistema Linfohemático" 1th. ed. E.N.E.P. Iztacala UNAM Méx. 207-241.
18. Catovsky, D., et al. (1977) "Classification of acute leukemia". Ann Inter Med. 87:740-753.
19. Hayhoe, F., et al. (1972) "Acute leukemia: cellular morphology, cytochemistry and fine structure". Clin Haematol. 1:49-52.
20. Catovsky, D. (1982) "The classification of acute leukemia". Pathology. 14:277-281.
21. Argyle, C., et al. (1989) "Acute nonlymphocytic leukemias of childhood". Cancer 63:295-301.

22. Nokamura, H. (1989) "Cytogenetic heterogeneity in erythroleukemia defined as M6 by French-American-British (FAB) Cooperative group criteria". *Leukemia* 3:305-309.
23. Greenberg, S., et al. (1988) "Characterization of a new megakaryocytic cell line: the Damicell". *Blood* 72:1968-1977.
24. Stamberg, J. (1987) "Chromosome abnormalities in erythroleukemia". *Cancer* 60:2649-2653.
25. Koepke, J. (1983) "Análisis de laboratorio clínico para diagnóstico". 3th ed. Limusa, Méx. 175-200.
26. Woessner, S. (1988) "Metodología general en el diagnóstico citohematológico". *Sangre* 33:301-305.
27. Davidsohn, I., Henry, J., (1976) "Diagnóstico clínico por el laboratorio Todd-Sanford" 5th ed. Salvat Méx. 286-322.
28. Sobol, R., et al. (1985) "Adult acute lymphoblastic leukemia phenotypes defined by monoclonal antibodies". *Blood* 60:730-735.
29. Foom, K., et al. (1986) "Immunologic classification of leukemia lymphoma". *Blood* 68:1-31.
30. Bellanti, J. (1988) "Inmunología". 3th ed. Interamericana Méx. 579p.
31. Watson, J., et al. (1988) "Molecular Biology of the gene". 4th ed. The Benjamin/Cummings Publishing Company Ins. California 1006-1096.
32. Haluska, F., et al. (1987) "Mechanisms of chromosome translocation in B-and T-cell neoplasia". *Trends in Genetics (TIG)* 3:11-15.
33. Miyamoto, K., et al. (1987) "Specific abnormalities of chromosome 14 in patients with acute type of adult T-cell leukemia lymphoma". *Int. J. Cancer*. 40:461-466.
34. Uckum, F., et al. (1989) "Immunofenotype-karyotype Associations in Human Acute Lymphoblastic Leukemia". *Blood* 73:271-280.
35. Franks, L., et al. (1986) "Introduction to the cellular and molecular biology of cancer". Oxford University Pres Chicago 458p.
36. Raimondi, S., et al. (1987) "7q32-q36, translocation in childhood T-cell leukemia: cytogenetic evidence for involvement of the T-cell receptor beta-chain gene". *Blood* 69:131-134.
37. Kagan, J., et al. (1989) "Clustering of breakpoint on chromosome 10 in acute T-cell leukemias with the t(10;14) chromosome translocation". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 86:4161-4169.
38. Ojeda, E. (1988) "Estudio de los marcadores inmunológicos y su correlación con la clasificación del FAB en Leucemias Agudas". *Sangre* 68:1232-1241.
39. San Miguel, J. (1986) "Surfacter marker analysis in acute myeloid leukemia and correlation with FAB classification". *Br. J. Haematol.* 54:547-560.
40. Koller, V. et al. (1989) "Immunofluorescence and immunocytochemical stain methods for simultaneous cytogenetic and phenotypic characterization of mitotic cells". *Wien. Klin. Wochenshr.* 110:11-117.
41. Neame, P., et al. "Classification acute leukemia by immunophenotyping: a combined FAB immunophogic classification of AML". *Blood* 68:1355-1362.

42. First MIC Cooperative Study Group. (1986) "Morphologic, immunologic and cytogenetic (MIC) working classification of acute lymphoblastic leukemias". *Cancer Genet. Cytogenet.* 23:189-197.
43. Hayhoe, F. (1988) "Classification of acute leukemias". *Blood Rev.* 2:186-193.
44. Second MIC Cooperative Study Group. (1988) "Morphologic, immunologic and cytogenetic (MIC) working classification of the acute myeloid leukaemias". *Br. J. Haematol.* 68:487-494.
45. Sandler, D., et al. (1987). "Cytogenetic and environmental factors in the etiology of the acute leukemias in adults". *Am. J. Epidemiol.* 126:10017-1032.
46. Torres, A., et al. (1981) "Conceptos actuales de la etiopatogenia de las leucemias agudas". *Sangre* 26:700-717.
47. Kohn, K., et al. (1984) "Radiation carcinogenesis". *N. Engl. J. Med.* 310:504-509.
48. O'Donnell, J., et al. (1979) "Acute nonlymphocytic leukemia and acute myeloproliferative syndrome following radiation therapy for non-Hodgkins lymphoma and chronic lymphocytic leukemia: clinical studies". *Cancer* 44:1930-1937.
49. Sandberg, A. (1980) "The chromosomes in human cancer and leukemia". Elsevier North Holland, New York 748p.
50. Amenomorro, T., et al. (1988) "Growth and differentiation of circulating hemopoietic stem cells with atomic bomb irradiation-induced chromosome abnormalities". *Exp. Hematol.* 16:849-854.
51. Moloney, W. (1987) "Radiogenic leukemia revisited". *Blood.* 70:905-908.
52. Nénot, J., et al. (1993) "La catástrofe de Chernobyl. Un balance inesperado". *Mundo Científico* 12:978-987.
53. Gumerlock, P., et al. (1989) "Activated c-N-ras in radiation induced acute nonlymphocytic leukemia: twelfth codon aspartic acid". *Radiation Res.* 117:198-206.
54. Mervelo, D., et al. (1983) "Induction of leukemia by both fractionated X-irradiation and radiation leukemia virus involves loci in the chromosome 2 segment H-30-A". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 80:162-166.
55. Yokota, S., et al. (1989) "Acute nonlymphocytic leukemia (M2) with chromosome abnormality trisomy 4 developing eight years after radiation therapy for breast cancer". *Blud* 59:27-31.
56. Bonnell, J. (1982) "Effects of electrical field near power transmission plant". *J. Roy. Soc. Med.* 75:933-941.
57. Coleman, M., et al. (1983) "Leukemia incidence in electrical workers". *Lancet* 1:982-983.
58. Wertheimer, N., et al. (1979) "Electrical waving configurations and childhood cancer". *Am. J. Epidemiol.* 109:223-284.
59. Wiklund, K., et al. (1981) "An application of the swedish cancer environment registry. Leukemia among telephone operators of the telecommunications administration in sweden". *Inter. J. Epidem.* 10:373-376.
60. Mitelman, F., et al. (1978) "Relation among occupational exposure to potential mutagenic/carcinogenic agents, clinical findings, and bone marrow chromosomes in acute nonlymphocytic leukemia". *Blood* 52:1229-1237.

61. Mitelman, P., et al. (1979) "Chromosomes, leukemia and occupational exposure to leukemogenic agents". *Lancet* 2:1195-1196.
62. Viglia, E., et al. (1964) "Benzene and leukemia". *N. Engl. J. Med.* 271:872-875.
63. Aksoy, M. (1976) "Types of leukemia in chronic benzene poisoning. A study in thirty four patients". *Acta. Haematol.* 55:65-69.
64. Cohen, T., et al. (1967) "Acute myeloid leukemia following seven years of aplastic anemia induced by chloramphenicol". *Am. J. Med.* 43:762-766.
65. Jedlika, V. (1958) "Promyeloblastic leukemia appearing simultaneous in two blood causing after simultaneous contact with gammexane". *Acta. Med. Scand.* 81:445-449.
66. Jensen, M., et al. (1965) "Phenylbutazone and leukemia". *Acta. Med. Scand.* 178:505-507.
67. Hostedt, C., et al. (1979) "Leukemia in workers exposed to ethylene oxide". *JAMA* 242:1132-1136.
68. Mamuris, Z., et al. (1989) "The chemotherapeutic drug melphalan induces breakage of chromosomes regions rearranged in secondary leukemia". *Cancer Genet. Cytogenet.* 37:65-77.
69. Berk, P., et al. (1981) "Increased incidence of acute leukemia in polycythemia vera associated with chlorambucil therapy". *N. Engl. J. Med.* 304:441-447.
70. Shepard, K., et al. (1988) "Acute leukemia occurring after radiotherapy and chemotherapy with nitrosourea". *Invest. New. Drugs* 6:121-124.
71. Trosko, J., et al. (1975) "The role of DNA repair and somatic mutation in carcinogenesis". *Advan Cancer Res.* 21:391-397.
72. Bishop, J. (1982) "Oncogenes". En *el Cáncer 1986*. Santos, E., Rodriguez, V. ed. Scientific American. Prensa Científica 2a. ed. Barcelona 62-74.
73. Gallo, R., et al. (1982) "Retrovirus as etiologic agents of some animal and human leukemias and lymphomas and as tools for elucidating the molecular mechanisms of leukemogenesis". *Blood* 60:545-557.
74. Wong-Staal, F., et al. (1985) "The family of human T-lymphotropic leukemia viruses; HTLV-I as the cause of adult T-cell leukemia and HTLV-III as the cause of acquired immunodeficiency syndrome". *Blood* 65:253-263.
75. Notario, V. (1986) "Retrovirus, factores de crecimiento y oncogénesis". En *El Cáncer*, (1986) Santos, E., Rodriguez, V. Scientific American. Prensa Científica 2a. ed. Barcelona 117-123.
76. Geissler, E., et al. (1983) "Virus-induced gene mutations of eukaryotic cells". *Hum. Genet.* 63:1-12.
77. Henle, W., et al. (1979) "El virus de Epstein-Barr". En *El Cáncer*, (1986) Santos, E., Rodriguez, V. ed. Scientific American. Prensa Científica. 2a. ed. Barcelona 104-116.
78. Sheinin, R. (1981) "Tumor viruses as modifier of the nuclear genome of eukaryotic cells". *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 361:435-460.
79. Drazek, O., et al. (1988). "Molecular biology of chronic myelogenous leukemia". *Sem. Hematology* 25:35-49.

80. Collins, S. (1987) "The HL-60 promyelocytic leukemia cell line proliferation, differentiation and cellular oncogene expression". *Blood* 70:1233-1234.
81. Hunter, T. (1984) "Proteínas de oncogenes". En *El Cáncer*. (1986) Santos, E., Rodríguez, V. ed. Scientific American. Prensa Científica 2a. ed. Barcelona 75-85.
82. Chosa, T., et al. (1982) "Effectivity in a human retrovirus adult T-cell leukemia virus". *Gann*. 73:844-947.
83. Cairns, J. (1976) "El problema del cáncer". En *El Cáncer* (1986). Santos, E., Rodríguez, V. Scientific American. Prensa Científica 2a. ed. Barcelona 12-23.
84. Knudson, A. (1976) "Germinal and somatic mutations in cancer". In. *Proc. Int. Congr. Hum. Genet. Méx. City Amsterdam Excerpta Medica*. Oct. 10-15, 1976. 376-371.
85. Knudson, A. (1977) "Genetics and etiology of human cancer" *Adv. Hum. Genet.* 8:1-66.
86. Knudson, A. (1986) "Genetics of human cancer". *Ann. Rev. Genet.* 20:231-251.
87. Knudson, A. (1993) "All in the (cancer) family" *Nature Genetics* 5:103-106.
88. Matsunaga, E. (1978) "Hereditary retinoblastoma: Delayed mutation or host resistance". *Am. J. Hum. Genet.* 30:406-424.
89. Matsunaga, E. (1982) "Hereditary retinoblastoma: Lack of maternal effect". *Human Genetics* 62:124-128.
90. Fialkow, P. (1981) "Acute nonlymphocytic leukemia heterogeneity of stem cell origin". *Blood* 57:1068-1073.
91. Rowley, J. (1984) "Biological implications of consistent chromosome rearrangements in leukemia and lymphoma". *Cancer Res.* 44:3159-3168.
92. Whang-Peng, J., et al. (1985) "Cytogenetic studies in human T-cell lymphoma virus (HTLV)-positive leukemia-lymphoma in the United States". *JNCI*. 74:357-359.
93. Kumar, S., et al. (1986) "Rearrangements of T-cell receptor beta-chain genes in human leukemias". *Molecular Immunol.* 23:1349-1356.
94. Kurita, S. (1969) "Genetics of familial leukemia". *Jpn. J. Hum. Genet* 14:163-179.
95. Epstein, C. (1986) "The consequence of chromosome imbalance, principals, mechanisms and models". Cambridge. University Press USA 344-365.
96. Chaganti, C. (1979) "Cytogenetic evidence of the intrauterine origin of acute leukemia in monozygotic twins". *N. Engl. J. Med.* 300:1032-1034.
97. Hartley, S., et al. (1981) "Acute leukemia and the same chromosome abnormality in monozygotic twins". *Hum Genet.* 58:408-410.
98. Rivera, R., et al. (1989) "Genética y cáncer". *Rev. Med. Hosp. Gen. Méx.* 32:142-151.
99. Groupe Français de Cytogénétique Hématologique. (1988) "Cytogenetic findings in leukemic cells of 56 patients with constitutional chromosomes abnormalities. A cooperative study". *Cancer Genet. Cytogenet.* 35:243-252.
100. Weinberger, M., et al. (1970) "Congenital marrow dysfunction in Down's syndrome". *J. Pediatr.* 77:273-279.

101. Chaganti, R., et al. (1982) "Chronic myelogenous leukemia in the monocytic cell line of a fertile Turner syndrome mosaic (45X0/46XX)". *Cancer Genet. Cytogenet.* 5:215-221.
102. Atichartakarn, V., et al. (1986) "Acute nonlymphocytic leukemia with a t(1;3)(p36;q21) in an XYY man". *Cancer Genet. Cytogenet.* 21:79-83.
103. Bishop, J. (1983) "Cellular oncogenes and retrovirus". *Ann. Rev. Biochem.* 52:301-354.
104. Scriver, C., et al. (1989) "The metabolic basis of inherited disease". 6th. ed Mc Graw Hill, USA 251-276.
105. Park, M., et al. (1989) "Oncogenes: Genes associated with neoplastic disease". In: *The metabolic basis of inherited disease*. Scriver, C., Beaudet, A., et al. (1989). 6th. ed. Mc Graw Hill, USA 251-276.
106. Graham, F., et al. (1973) "A new technique for the assay of infectivity of human adenovirus 5 DNA". *Virology* 52:456-457.
107. Cooper, G. (1982) "Cellular transforming genes". *Science* 217:801-806.
108. Barmann, C., et al. (1986) "Multiple independent activations of new oncogene by a point mutation altering the transmembrane domain of p185". *Cell* 45:649-656.
109. Cooper, C., et al. (1984) "Molecular cloning of a new transforming gene from chemically transformed human cell line". *Nature* 311:29-34.
110. Zanca, M., et al. (1986) "A human oncogene formed by fusion of truncated tropomyosin and protein tyrosine kinase sequences". *Nature* 314:743-749.
111. Fasano, O., et al. (1984) "New human transforming genes detected by a tumorigenicity assay". *Mol. Cell. Biol.* 4:1695-1703.
112. Yamamoto, T., et al. (1986) "Similarity of protein encoded by the human c-erbB2 gene to epidermal growth factor receptor". *Nature* 319:230-238.
113. Bovi, P., et al. (1987) "An oncogene isolation by transfection of kaposi's sarcoma DNA encodes a growth factor that is a member of the FGF family". *Cell* 50:229-235.
114. Pearson, M., et al. (1985) "The relation of oncogenesis and cytogenetics in leukemia and lymphoma". *Ann Rev Med.* 36:471-483.
115. Bartran, C. (1985) "Activation of proto-oncogenes in human leukemias". *Blud* 51:63-71.
116. Land, H., et al. (1983) "Cellular oncogenes and multistep carcinogenesis". *Science* 222:771-776.
117. Downward, J., et al. (1984) "Close similarity of epidermal growth factor receptor and v-erbB oncogene protein sequences". *Nature* 307:521-530.
118. Yunis, J. (1983) "The chromosomal basis of human neoplasia". *Science* 221:227-236.
119. De Klein, A. (1987) "Oncogene activation by chromosomal rearrangement in chronic myelocytic leukemia". *Mut. Res.* 186:161-172.
120. Rassool, F., et al. (1993) "Isolation of the fragile site by direct cloning". *A. J. Human. Genetics.* 53:238.
121. Jacky, R., et al. (1983) "Fragile sites in chromosomes: Possible model for study of spontaneous chromosome breakage". *Science* 220:69-70.

122. Verma, R., et al. (1989) "Human chromosome. Manual of basic techniques" Pergamon Press 116-124.
123. Mules, E., et al. (1989) "Cancer in relatives of leukemic patients with chromosomal rearrangements at rare (heritable) fragile-site locations in their malignant cells". *Am. J. Hum. Genet* 44:811-819.
124. Sutherland, R., et al. (1985) "Fragile sites on human chromosomes". Oxford University Press New York 3-15.
125. Tsuji, H., et al. (1992) "Induction of distamycin A-inducible rare fragile sites and increased sister chromatid exchanges at the fragile site". *Human Genet.* 87:254-260.
126. Yunis, J. (1986) "Chromosomal rearrangements genes and fragile sites in cancer and biologic implications" En: *Important advances in oncology* (1986) Devits, V., Rosenberg, S. ed. Lippincott Co. San Francisco. 93-128.
127. Nagesh Rao, P., et al. (1988) "Expression of fragile sites in childhood acute lymphoblastic leukemia a patients and normal controls". *Hum. Genet.* 79:329-334.
128. Le Beau, M. (1986) "Chromosomal fragile sites and cancer specific rearrangements". *Blood* 67:849-858.
129. Sutherland, G., et al. (1985) "Fragile sites and cancer". En *Fragile Sites on Human Chromosomes*. Oxford University Press New York 207-226.
130. Testa, J., et al. (1981) "Chromosomes in leukemia and lymphoma with special emphasis in methodology". In: *Leukemic Cell*. Catovsky, D. ed. Churchill Livingston Edinburg and London 182-202.
131. Emery, E. (1984) "An introduction to recombinant DNA". John Wiley & Sons. New York.
132. Aye, M., et al. (1972) "Growth of leukemic cells in culture". *Blood* 40:806-809.
133. Chervenik, P., et al. (1971) "Human leukemic cells: in vitro growth of colonies containing the philadelphia (Ph') chromosome". *Science* 174:1134-1140.
134. Carbonell, F., et al. (1979) "Crecimiento de las células leucémicas en cultivo: selección de clones citogenéticamente anormales". *Sangre* 24:1057-1060.
135. Yunis, J. (1981) "New chromosome techniques in the study of human neoplasia". *Human Pathology* 12:540-549.
136. Caspersson, T., et al. (1970) "Identification of chromosomes by DNA-binding fluorescent agents". *Chromosoma* 20:215-227.
137. Wang, H., et al. (1972) "Banding in human chromosomes treated with trypsin". *Nature New Biol.* 253:52-54.
138. Dutrillaux, B. (1973) "Application to the normal karyotype of R band and G band techniques involving prototype dypetan". *Nobel Symposium* 23:48-52.
139. Dutrillaux, B., (1973) "New sistem of chromosome banding: the T-bands". *Chromosoma*. 44:395-398.
140. Buys, Ch., et al. (1978) "Rapid identification of chromosomes carryng silver-stained nucleolos organizing regions". *Hum. Genet* 44:147-152.

141. Sumner, A. (1972) "A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin". *Exp. Cell. Res.* 75:304-306.
142. Berger, R., et al. (1979) "C-banding studies in various blood disorders". *Cancer Genet. Cytogenet.* 1:95-102.
143. Kristoffersson, V., et al. (1989) "Constitutional C-band polymorphism in lymphocytes from patients with chronic myeloid leukemia". *Hereditas* 110:145-148.
144. Paris Conf. 1971 (1972) "Standardization in human cytogenetic". In: *Birth Defects Orig. Artic. Ser. Vol 8, No. 7. Natl. Foundation-March of Dimes New York.*
145. ISCN (1985) "An international system for human cytogenetic nomenclature". In: *Birth Defects. Orig. Artic. Ser. Vol. 21. No. 1 Natl. Foundation-March of Dimes New York.*
146. Yunis, J. (1981) "Chromosomes and cancer: New nomenclature and future directions". *Human Pathology* 12:494-502.
147. Márquez, H. y Trujillo, J. (1992) "Nomenclatura de los cromosomas humanos". En *Principios de Genética Humana*. Márquez, H. y Trujillo, J. 1a. ed. La Prensa Médica Mexicana 498-507.
148. Rowley, J., et al. (1982) "Chromosome abnormalities in malignant hematologic diseases". *Adv. Cancer Res.* 36:103-148.
149. Holiday, R. (1989) "Chromosome Error Propagation and Cancer". *TIG.* 5:42-45.
150. Heim, S., et al. (1987) "Secondary chromosome aberrations in the acute leukemias". *Cancer Genet. Cytogenet* 22:331-338.
151. Firth International Workshop on Chromosomes in Leukemia. (1978). *Cancer Res.* 38:867-868.
152. Second International Workshop on Chromosomes in Leukemia. (1980). *Cancer Res.* 40:4820-4827.
153. Fourth International Workshop on Chromosomes in Leukemia. 1982 (1984) "A prospective study of acute nonlymphocytic leukemia". *Cancer Genet. Cytogenet* 11:249-260.
154. Prigona, E., et al. (1986) "Chromosomes in acute nonlymphocytic leukemia". *Human Genet.* 73:137-146.
155. Heim, S., et al. (1986) "Numerical chromosome aberrations in human neoplasia". *Cancer Genet. Cytogenet.* 22:99-108.
156. Rowley, J. (1981) "Association of specific chromosome abnormalities with type of acute leukemia and with patient age". *Cancer Res.* 41:3407-3411.
157. Rowley, J., et al. (1982) "A collaborative study of the relationship of the morphological type of ANLL with patients age and karyotype". *Blood* 59:1013-1016.
158. Minelli, A., et al. (1990) "Gene dosage effect in acquired monosomy 7: distinct behaviour of Beta-glucuronidase and phosphoserine phosphatase". *Genes Chrom. Cancer* 1:216-220.
159. Bananger, L., et al. (1990) "Monosomy-7 in childhood hematopoietic disorders". *Leukemia* 4:345-349.

160. Mecucci, C., et al. (1986) "Trisomy 4: Identifies a subset of acute nonlymphocytic leukemias". *Blood* 67:1328-1332.
161. Weber, E., et al. (1990) "Trisomy 4: A specific karyotype anomaly in primary and secondary acute myeloid leukemia". *Leukemia* 4:219-221.
162. Abe, S., et al. (1980) "Chromosomes and causation of cancer and leukemia. XXXV. The missing Y in acute nonlymphocytic leukemia (ANLL)". *Cancer* 45:84-90.
163. Holme, R., et al. (1985a) "Loss of the Y chromosome in acute myelogenous leukemia: a report of 13 patients". *Cancer Genet. Cytogenet* 17:269-278.
164. Yunis, J., et al. (1984) "High-resolution chromosome as an independent prognostic indicator in adult acute nonlymphocytic leukemia". *N. Engl. Med.* 311:812-818.
165. Kamada, N., et al. (1968) "Chromosome 21-22 and neutrophil alkaline phosphatase in leukemia". *Lancet* 1:364-369.
166. Rowley, J. (1973b) "Identification of a translocation with quinacrine-fluorescence in a patient with acute leukemia". *Ann. Genet.* 16:109-112.
167. Prigogina, E., et al. (1986) "Chromosomes in acute nonlymphocytic leukemia". *Human Genet* 73:137-146.
168. Groupe Francais de Cyto-genetique Hematologique. (1990) "Acute myelogenous leukemia with an 8;21 translocation. A report on 148 cases from the Group Francais de Cyto-genetique Hematologique". *Cancer Genet. Cytogenet* 44:169-179.
169. Shikano, T., et al. (1990) "Kariotypic changes from initial diagnosis to relapse in childhood acute leukemia". *Leukemia* 4:419-422.
170. Diaz, M., et al. (1985) "The role of the c-mos gene in the 8;21 translocation in human acute myeloblastic leukemia". *Science* 229:767-769.
171. Sacchi, N., et al. (1993) "Normal and chimeric AML1 transcripts in the t(8;21) of acute myelogenous leukemia". *Am. J. Human. Genet.* 53:253.
172. Coulomb, H., et al. (1976) "Partial deletion of long arm of chromosome 17". *Arch. Inter. Med.* 136:825-828.
173. Rowley, J., et al. (1977a) "15;17 translocation a consistent chromosomal change in acute promyelocytic leukemia". *Lancet* 1:549-550.
174. Rowley, J., et al. (1977b) "Further evidence for a nonrandom chromosomal abnormality in acute promyelocytic leukemia". *Int. J. Cancer.* 20:869-872.
175. Berger, R., et al. (1983) "Cytological types of mitosis and chromosome abnormalities in acute leukemia". *Leukemia Res.* 7:221-236.
176. Larson, R., et al. (1984) "Evidence for 15;17 translocation in every patient with acute promyelocytic leukemia". *Am. J. Med.* 76:827-841.
177. Dayton, A., et al. (1984) "A human c-erbA oncogene homologue is closely proximal to the chromosome 17 breakpoint in acute promyelocytic leukemia". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81:4495-4499.
178. Sher, D., et al. (1983) "Localization of the oncogene c-erbA1 immediately proximal to the APL breakpoint on chromosome 17". *Ann. Hum. Genet.* 49:167-171.
179. Arthur, D., et al. (1983) "Partial deletion of the long arm of chromosome 16 and bone marrow eosinophilia in acute nonlymphocytic leukemia: a new association". *Blood* 61:994-998.

180. Le Beau, M., et al. (1983) "Association of a inversion of chromosome 16 with abnormal marrow eosinophilia in acute myelomonocytic leukemia". *N. Engl. J. Med.* 309:630-636.
181. Dauwerse, J., et al. (1993) "Cloning the region spanning the inv(16) breakpoint in acute nonlymphocytic leukemia M4Eo". *Am. J. Human. Genet.* 53:242.
182. Nakamura, H., et al. (1990) "Hypoplastic acute leukemia associated with inv(16)(p13q22)". *Cancer Genet. Cytogenet.* 51:63-66.
183. Lawler, S., et al. (1990) "Cytogenetic studies of leukemic recurrence in recipients of bone marrow allografts". *Cancer Genet. Cytogenet.* 47:249-263.
184. Baer, M., et al. (1990) "Cytogenetic study of maturing granulocytes in bone marrow of patients with acute myelogenous leukemia". *Leukemia* 4:297-301.
185. Liu, P., et al. (1993) "A fusion between transcription factor and a myosin heavy chain is generated by the chromosome 15 inversion in acute myelomonocytic leukemia M4Eo". *Am. J. Human. Genet.* 53: 243.
186. De La Chapelle, A., et al. (1983) "Chromosome 16 and bone marrow eosinophilia". *N. Engl. J. Med.* 309:1394-1399.
187. Testa, J., et al. (1984) "Chromosome 16 rearrangements in acute myelomonocytic leukemia with abnormal eosinophilia". *N. Engl. J. Med.* 330:468-469.
188. Le Beau, M., et al. (1985) "Metallothionein gene cluster is split by chromosome 16 rearrangement in myelomonocytic leukemia". *Nature* 313:709-711.
189. Pearson, M., et al. (1985) "Increased numbers of marrow basophils may be associated with a t(6;9) in LMA". *Am. J. Hemat.* 18:393-403.
190. Sandberg, A., et al. (1983) "Acute myeloblastic leukemia (AML) with t(6;9)(p23;q24) a specific subgroup of AML?". *Cancer Genet. Cytogenet.* 10:139-142.
191. Stejskalova, E., et al. (1990) "A traslocation (6;9)(q23;q34) and trisomy 13 in a case of childhood acute nonlymphocytic leukemia". *Cancer Genet. Cytogenet.* 45:139-141.
192. Fleischman, E., et al. (1983) "Chromosomal rearrangement with a common breakpoint at 6p23 in five cases of myeloid leukemia". *Human. Genet.* 64:254-256.
193. Heim, S., et al. (1986) "High-resolution banding analysis of the reciprocal translocation t(6;9) in acute nonlymphocytic leukemia". *Cancer Genet. Cytogenet.* 22:195-201.
194. Nagarajan, L., et al. (1986) "Localization of the human pim oncogene to a region of chromosome involved in translocations in acute leukemias". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83:2556-2560.
195. Bernstein, R., et al. (1982) "Chromosome 3 abnormalities in acute nonlymphocytic leukemia (ANLL) with abnormal thrombopoiesis: report of three patients with a "new" inversion anomaly and a further case of homologous translocation". *Blood* 60:613-617.
196. Sweet, D., et al. (1979) "Acute myelogenous leukemia and thrombocythemia associated with an abnormality of chromosome 3" *Cancer Genet. Cytogenet.* 1:33-37.

197. Walter, T., et al. (1990) "Apparent duplication of inv(3)(q21-q26) in one of five cases with inv(3) in myelodysplastic syndromes and acute leukemia". *Am. J. Hematol.* 33:210-214.
198. Bitter, M., et al. (1985) "Rearrangements of chromosome 3 involving bands 3q21 and 3q26 are associated with normal or elevated platelet counts in acute nonlymphocytic leukemias". *Blood* 66: 1362-1370.
199. Seligman, P., et al. (1986) "The p97 antigen is mapped to the q24-qter region of chromosome 3 the same regions as the transferrin receptor". *Am. J. Hum. Genet* 38:540-548.
200. Pinto, M., et al. (1985) "Acute megakarioblastic leukaemia with 3q inversion and elevated thrombopoietin (TSF): an autocrine role for TSF?". *Br. J. Haematol* 61:687-694.
201. Hagemeijer, A., et al. (1982) "Translocation (9;11)(p21;q23) in three cases of acute monoblastic leukemia". *Cancer Genet. Cytogenet.* 5:95-105.
202. Albain, K., et al. (1990) "Implication of prior treatment with drug combinations including inhibitors of topoisomerase II in therapy-related monocytic leukemia with a 9;11 translocation". *Genes Chrom.* 2:53-58.
203. Kaneko, Y., et al. (1986) "Clinical and hematologic characteristic in acute leukemia with 11q23 translocation". *Blood* 67:484-491.
204. Caubet, J., et al. (1986) "Localisation anormale du proto-oncogene c-ets-1 dans une leucemie aigue translocation (1;11)(q21;q23)". *C. R. Acad. Sci.* 302:589-591.
205. Diaz, M., et al. (1986) "Interferon and c-ets-1 genes in the translocation (9;11)(p22;q23) in human acute monocytic leukemias". *Science* 231:265-267.
206. Ziemer-Vander, P., et al. (1990) "Identification of a gene, MLL, that spans breakpoint in 11q23 translocation associated with human leukemias". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:10735-10739.
207. Scheres, J., et al. (1985) "Translocation (1;7) in hematologic disorders: a brief review of 22 cases". *Cancer Genet. Cytogenet.* 18:207-213.
208. La Raza, H., et al (1984) "Ph⁺- positive acute leukemia". *Eur. J. Cancer. Clin. Oncol.* 20:1509-1516.
209. Helenglass, G., et al. (1987) "Philadelphia chromosome-positive acute leukemia: morphologic and clinical correlations". *Am. J. Hematology* 25:311-324.
210. Heim, S., et al. (1987) "A new specific chromosomal rearrangement, t(8;16)(p11;p13), in acute monocytic leukaemia". *Br. J. Haematol* 66:323-326.
211. Zech, L., et al. (1976) "Characteristic chromosomal abnormalities in biopsies and lymphoid-cell lines from patients with Burkitt lymphomas". *Int. J. Cancer* 17:47-56.
212. Gramont, A., et al. (1986) "Preleukemic changes in cases of nonlymphocytic leukemia secondary to cytotoxic therapy". *Cancer* 58:630-634.
213. Rowley, J. (1980) "Chromosome abnormalities in human leukemia". *Ann. Rev. Genet.* 14:17-39.
214. Third International Workshop on Chromosomes in Leukemia 1980. (1981b) "Clinical significance of Chromosomal abnormalities in acute lymphoblastic leukemia". *Cancer Genet. Cytogenet.* 4:111-137.

215. Pui, C., et al. (1989) "Prognostic importance of structural chromosomal abnormalities in children with hyperdiploid (>50 chromosomes) acute lymphoblastic leukemia". *Blood* 73:1963-1967.
216. Heinonen, K., et al. (1988) "Cytogenetic study of 105 children with acute lymphoblastic leukemia". *Eur. J. Haematol* 41:236-242.
217. Smets, L., et al. (1985) "Phenotypic and karyotypic properties of hyperdiploid acute lymphoblastic leukemia of childhood". *Br. J. Haematol* 61:113-123.
218. Raimondi, S., et al. (1993) "Chromosomal changes accompanying hyperdiploidy (51 to 65 chromosomes) in childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL)". *Am J. Human. Genet.* 53:346.
219. Kristoffersson, V., et al. (1986) "Near-haploidy in a case of plasmacytoma". *Cancer Genet. Cytogenet.* 19:239-243.
220. Pui, C., et al. (1987) "Hypodiploidy is associated with a poor prognosis in childhood acute lymphoblastic leukemia". *Blood* 73:1963-1967.
221. Prieto, F., et al. (1981) "Citogenética de las leucemias agudas". *Sangre* 26:738-750.
222. Pui, C., et al (1990) "Clinical presentation karyotypic characterization and treatment outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia with a near-haploid or hypodiploid <45 line". *Blood* 75:1170-1177.
223. Sandberg, A., et al. (1988) "Trisomy 5 as sole anomaly in acute lymphoblastic leukemia". *Cancer Genet. Cytogenet.* 36:31-34.
224. Mitelman, F., et al (1990) "Trisomy 21 in neoplastic cells". *Am. J. Med. Genet. Suppl.* 7:262-266.
225. Carroll, A., et al. (1984) "Pre-B-cell leukemia associated with chromosome translocation (1;19)". *Blood* 63:721-724.
226. Michael, P., et al. (1985) "A review of the t(1;19) break points in acute lymphocytic leukemia". *Cancer Genet. Cytogenet.* 17:79-80.
227. Williams, D., et al. (1984) "New chromosomal translocations correlate with specific immunophenotypes of childhood acute lymphoblastic leukemia". *Cell* 36:101-109.
228. Shikano, T., et al. (1986) "Balanced and unbalanced (1;19) translocation associated acute lymphoblastic leukemias". *Cancer*. 58:2239-2243.
229. Yang-Feng, T., et al. (1985) "Gene for human insulin receptor localization to site on chromosome 19 involved in pre-B-cell leukemia". *Science* 228:728-731.
230. Van-Den-Bergher, H., et al. (1979) "A new chromosome anomaly in acute lymphoblastic leukemia (ALL)". *Hum. Genet.* 46:176-180.
231. Abe, R., et al. (1983) "Cytogenetic findings in congenital leukemia: case report and review of the literature". *Cancer Genet. Cytogenet.* 9:139-144.
232. Stark, B., et al. (1989) "Biologic and cytogenetic characteristics of leukemia in infants". *Cancer* 63:117-125.
233. Ferro, M., et al. (1986) "Translocation (4;11) in ALL: a new morphologic aspect?". *Cancer Genet. Cytogenet.* 23:145-145.

234. Parkin, J., et al. (1982) "Acute leukemia associated with the t(4;11) chromosome rearrangement: ultrastructural and immunologic characteristics". *Blood* 60:1321-1331.
235. Nagasaka, M., et al. (1983) "Four cases of t(4;11) acute leukemia and it is myelomonocytic mature in infants". *Blood* 61:1174-1181.
236. Daeschner, C., et al. (1983) "Mixed leukemia with chromosome (4;11) insertion". *Blood* (suppl) 62:573-581.
237. Stong, R., et al. (1985) "Human acute leukemia cell line with t(4;11) chromosomal rearrangement exhibits B-lineage and monocytic characteristics". *Blood* 65:21-31.
238. Stork, L., et al. (1990) "Heterogeneity of acute 'undifferentiated' leukemia of childhood: Ultrastructural, immunophenotypic, and karyotypic analysis". *Am. J. Pediatr. Hematol. Oncol.* 12:34-44.
239. Arana T., et al. (1993) "Estudio citogenético en 22 adultos y 3 niños con Leucemia Linfoblástica Aguda". *Rev. Inv. Clin.* 45:43-48.
240. Wang, N., et al. (1990) "Transposition of the oncogene ets-1 in translocation in acute leukemia". *Cancer Genet. Cytogenet.* 50:199-205.
241. Savage, P., et al. (1990) "Relationship of the human protooncogene CBL2 on 11q23 to the t(4;11), t(11;22) and t(11;14) breakpoints". *Cytogenet. Cell. Genet.* 56:112-115.
242. Propp, S., et al. (1970) "Philadelphia chromosome in acute lymphocytic leukemia". *Blood* 36:353-360.
243. Kalousck, D., et al. (1988) "Cytogenetic studies of haemopoietic colonies from patients with and initial diagnosis of acute lymphoblastic leukemia". *Br. J. Haematology* 70:5-11.
244. Sandberg, A., et al. (1985) "The philadelphia (Ph') chromosome in leukemia. II. Variant Ph' translocations in acute lymphoblastic leukemia". *Cancer Genet. Cytogenet.* 14:11-21.
245. Kitano, K., et al. (1988) "Difference of cell lineage expression of hemopoietic progenitor cells in philadelphia-positive t-acute lymphoblastic leukemia". *Br. J. Haematology* 70:21-26.
246. Bernstein, R. (1988) "Cytogenetic abnormalities in CML and related disorders". *Sen. Haematology* 25:1-34.
247. Maserati, E., et al. (1988) "Transposition of c-abl oncogene in a case of masked Ph' chromosome duplicated in blastic phase". *Human. Genet.* 78:748-750.
248. Rodenhuis, S., et al. (1985) "Distinguishing the philadelphia chromosome of acute lymphoblastic leukemia from its counterpart in chronic myelogenous leukemia". *N. Engl. J. Med.* 313:51-51.
249. Raza, A., et al. (1984) "Ph'-positive acute leukemia". *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.* 20:1509-1516.
250. La Raza, H., et al. (1983) "Patología del subdesarrollo. Análisis comparativo de la mortalidad en el Hospital General de México SSA". *Ciencia* 34:201-220.
251. Forman, S., et al. (1987) "Bone marrow transplantation for patients with philadelphia chromosome positive acute lymphoblastic leukemia". *Blood* 70:587-588.

252. Hermans, A., et al. (1987) "Unique fusion of bcr and c-abl genes in philadelphia chromosome positive acute lymphoblastic leukemia". *Cell* 51:33-44.
253. Dobrovic, A., et al. (1991) "Molecular analysis of philadelphia chromosome". *Chromosoma* 100:479-486.
254. Clark, S., et al. (1988) "Expression of a distinctive bcr-abl oncogene in Ph-positive acute lymphocytic leukemia (ALL)". *Science* 239:775-777.
255. Soekarman, D., et al (1990) "A novel variant of the bcr-abl fusion product in Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia". *Leukemia* 4:397-403.
256. Hunter, T. (1984) "Proteínas de oncogenes". En: *Cáncer* (1986) Santos, E. y Rodríguez, V. ed. Scientific American. Prensa Científica 2th. Ed. Barcelona 86-97.
257. Third International Workshop on Chromosomes in Leukemia (1980) "Chromosomal abnormalities in acute lymphoblastic leukemia". *Cancer Genet. Cytogenet.* 4:101-110.
258. Heerema, N., et al. (1985) "Karyotypic and clinical findings in a consecutive series of children with acute lymphocytic leukemia". *Cancer Genet. Cytogenet.* 17:165-169.
259. Bloomfield, C., et al. (1986) "Chromosomal abnormalities identify high-risk and low-risk patients with acute lymphoblastic leukemia". *N. Engl. J. Med.* 313:640-641.
260. Nimer, S., et al. (1987) "The 5q- abnormality". *Blood* 70:1705-1712.
261. Gjerstad, R., et al. (1990) "Establishment of continuous cultures of T-cell acute lymphoblastic leukemia cell at diagnosis". *Cancer Res.* 50:10-14.
262. Kamada, N., et al. (1992) "Chromosome abnormalities in adult T-cell leukemia/lymphoma: A karyotype review committee report". *Cancer Research* 52:1481-1493.
263. Barletta, C., et al. (1987) "Relationship between the c-myc locus and the 6q- chromosomal aberrations in leukemias and lymphomas". *Science* 235:1064-1067.
264. Kowalczyk, J., et al. (1983) "A possible subgroup of ALL with 9p-". *Cancer Genet. Cytogenet.* 9:383-385.
265. Chilcote, R., et al. (1985) "Lymphoblastic leukemia with lymphomatous features associated with abnormalities of the short arm of chromosome 9". *N. Engl. J. Med.* 313:286-291.
266. Maseki, N., et al. (1986) "Partial loss of the short arm of chromosome 9 in leukemia and lymphoma". *Cancer Genet. Cytogenet.* 22:89-91.
267. Rowley, J. (1984) "Biological implications of consistent chromosome rearrangements in leukemia and lymphoma". *Cancer Res.* 44:3159-3168.
268. Raimondi, S., et al. (1986) "Nonrandom involvement of the 12p12 breakpoint in chromosomal abnormalities in childhood acute lymphoblastic leukemia". *Blood* 68:69-65.
269. Dubé, J., et al. (1986) "Phenotypic heterogeneity in three cases of lymphoid malignancy with chromosomal translocations in 14q11". *Cytogenet. Cell Genet.* 41:215-218.
270. Hect, F., et al. (1984) "Common region on chromosome 14 in T-cell leukemia and lymphoma". *Science* 226:1445-1447.

271. Horbott, J., et al. (1986) "(11:14) translocation in three boys with acute lymphoblastic leukemia of T-cell immunophenotype". *Blud* 52:45-50.
272. Akao, Y., et al. (1990) "Rearrangements on chromosom 11q23 in hematopoietic tomo-associated t(11;14) and (11;19) translocations". *Cancer Res.* 51:6708-6711.
273. Silva, S., et al. (1976) "Leucemias, mesa redonda" *Revista de la Facultad de Medicina UNAM* 19:7:6-22.
274. Mitelman, M., et al. (1991) "Catalog of chromosome aberrations in cancer". 4 th. edition 2 University Oxford Press New York.