



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
SECRETARIA DE SALUD
HOSPITAL JUAREZ DE MEXICO
DIVISION DE PEDIATRIA

**HALLAZGOS CITOGENETICOS EN
PACIENTES PEDIATRICOS CON LEUCEMIA
LINFOBLASTICA AGUDA**

TESIS
QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE
ESPECIALISTA EN PEDIATRIA

Presenta
DRA. MAYRA MARLENE LARA GONZALEZ

TUTOR DE TESIS
DR. JOSE GABRIEL PEÑALOZA GONZALEZ

ASESOR DE TESIS:
M. EN C. MONICA SIERRA MARTINEZ



México, D.F.

Febrero 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México

Biblioteca Central

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM



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.

DR. CARLOS VIVERO CONTRERAS

TITULAR DE LA UNIDAD DE ENSEÑANZA
HOSPITAL JUAREZ DE MEXICO

DR. JORGE ALBERTO DEL CASTILLO MEDINA

PROFESOR TITULAR DEL CURSO O DE ESPECIALIZACION EN PEDIATRIA
HOSPITAL JUAREZ DE MEXICO

DR. JOSE GABRIEL PEÑALOZA GONZALEZ

TUTOR DE TESIS

M. EN C. MONICA SIERRA MARTINEZ

ASESOR DE TESIS

HJM2525/15-R

AGRADECIMIENTOS

A mis hijos Fernanda y Santiago, por los momentos de ausencia, por su paciencia y entendimiento, por soportar el cansancio; por ser el gran amor de mi vida y la fortaleza para cumplir este sueño.

A mi esposo Jonathan, por la tolerancia, por darme la mano y nunca soltarla, por todo su apoyo en esta gran aventura.

A mi familia, mi madre Sylvia, por su ayuda incondicional, en todo momento, por sus consejos y su ejemplo.

A mi Padre Salvador por la disposición y la ayuda que siempre me brinda.

A mi Hermana, gracias por entenderme, sin ustedes nada de esto hubiera sido posible.

A todos mis maestros que contribuyeron para que esto fuera realidad.

INDICE

1. INDICE	4
2. INTRODUCCIÓN.....	5
3. MARCO TEÓRICO.....	6
3.1. JUSTIFICACIÓN.....	15
3.2. OBJETIVO.....	16
3.3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	17
3.4. DISEÑO DE ESTUDIO.....	25
3.5. RESULTADOS.....	26
4. DISCUSIÓN.....	32
5. CONCLUSIÓN.....	34
6. BIBLIOGRAFÍA.....	35

2.-INTRODUCCION

La leucemia linfoblástica aguda (LLA), es una enfermedad maligna que se caracteriza por una proliferación descontrolada de células linfoides inmaduras que invaden la médula ósea, bloqueando la hematopoyesis normal.⁽¹⁾

En México, de acuerdo al último registro epidemiológico (2010), se estimaron 10,400 casos nuevos, correspondiendo al 9.6% del total de cánceres diagnosticados ese año; a nivel mundial representa del 25-30% de las neoplasias en menores de 14 años.

Actualmente se desconoce la etiología de la LLA, pero existen varios factores que incrementan el riesgo de desarrollar este tipo de padecimientos; dentro de estos se incluyen los síndromes hereditarios, alteraciones del sistema inmunológico, factores de riesgo ambientales, ocupacionales y factores de riesgos no comprobados o controversiales.

Las características clínicas de la LLA son anemia, fiebre y hemorragias y el diagnóstico definitivo de LLA se basa en la demostración de blastos en médula ósea que iguale o supere el 25% de la totalidad celular, además de la morfología, inmunofenotipo y citogenética.

Los estudios cromosómicos de LLA durante las últimas tres décadas han dado un gran aporte al conocimiento de los cambios genéticos que ocurren en estas enfermedades. El análisis citogenético de las células tumorales ha revelado la presencia de alteraciones cromosómicas clonales en más de 30,000 neoplasias humanas. Muchas de ellas se han caracterizado molecularmente, permitiendo la identificación de nuevos oncogenes y genes supresores de tumores implicados en la génesis tumoral.⁽²⁾

En el caso de las LLA, se estima que hasta en el 60% existe una alteración cromosómica, principalmente translocaciones, inversiones, deleciones, monosomías y trisomías.⁽³⁾ Estas alteraciones, se ha reportado, influyen directamente en el pronóstico del paciente, ya que se relacionan con la respuesta al tratamiento.

Es de vital importancia identificar las alteraciones cromosómicas en los pacientes pediátricos con LLA al momento del diagnóstico para poder clasificarla en alto o bajo riesgo de recaída , además de elegir el tratamiento adecuado. Por ello el objetivo de este trabajo es reportar los hallazgos citogenéticos en pacientes pediátricos con LLA.

3. MARCO TEORICO:

La LLA se caracteriza por la acumulación de células linfoides malignas en la médula ósea y en muchos casos, en la sangre periférica. Es una enfermedad heterogénea desde el punto de vista morfológico, citogenético, de marcadores de superficie celular y en sus aspectos clínicos.

Epidemiología:

Es la más común de las neoplasias de niños y su frecuencia es mayor entre los 3 y 5 años, predomina en el género masculino. Su incidencia anual es de 3 por 100.000 niños⁽⁴⁾ y representa el 23% de los diagnósticos en menores de 15 años. Aproximadamente, 2400 niños y adolescentes menores de 20 años son diagnosticados de LLA en Estados Unidos.⁽⁵⁾

En México se reporta que el 30% de los niños con cáncer padecen leucemia, el subgrupo más afectado es el de los hombres, con una relación 4:3; en cuanto a la clasificación de las leucemia, el tipo más común es la linfocítica con el 81.3% de los casos. Por grupo etario, el de 10 a 14 años es el más afectado con el 51.5%, seguido del grupo de 5 a 9 años con el 18.4%.⁽⁷⁾

Etiología:

Existen factores de riesgo que se han relacionado para el desarrollo de esta entidad, dividiéndolos en varios grupos:

- **Factores de riesgo genéticos:**
 - Síndrome de Down (trisomía 21), con un riesgo general de 2% a 3% de presentar LLA.⁽⁶⁾
 - Síndrome de Li-Fraumeni: Mutaciones en el gen supresor de tumores TP53⁽⁸⁾
 - Neurofibromatosis ⁽⁹⁾
 - Anemia de Fanconi
- **Problemas hereditarios del sistema inmunológico**
 - Ataxia-telangiectasia
 - Síndrome Wiskott-Aldrich
 - Síndrome de Bloom
 - Síndrome Schwachman -Diamond
- Hermanos o hermanas con leucemia, con un riesgo aumentado de dos a cuatro veces más que lo normal, incrementando entre gemelos idénticos. Si un gemelo desarrolla leucemia infantil, el otro gemelo tiene aproximadamente una probabilidad en cinco de desarrollar leucemia también. El riesgo es mayor si la leucemia se desarrolla en el primer año de vida. Resultados de estudios moleculares demostraron metástasis intrauterina de un gemelo a otro a través de la circulación placentaria.

- Factores de riesgo ambientales

La radiación y ciertas sustancias químicas aumentan el riesgo de adquirir leucemia en un lapso de seis a ocho años después de la exposición. Si un feto es expuesto a radiación durante los primeros meses de su desarrollo, también puede haber un riesgo aumentado de leucemia en niños.

La exposición a medicamentos como ciclofosfamida, clorambucil, etopósido y tenipósido han sido relacionados con un mayor riesgo de leucemia. Estas leucemias generalmente se desarrollan en un plazo de 5 a 10 años a partir del tratamiento y tienden a ser difíciles de tratar.

La exposición a químicos como benceno, pesticidas, se han relacionado con esta enfermedad.⁽⁸⁾

- Supresión del sistema inmunológico

Los niños que reciben un tratamiento intensivo para suprimir su sistema inmunológico (trasplantados de órganos)

- Factores de riesgo inciertos, no comprobados o controversiales⁽⁸⁾

- Exposición a campos electromagnéticos (como vivir cerca de líneas eléctricas).
- Vivir cerca de una planta de energía nuclear.
- Infecciones a temprana edad. Infecciones por el virus de Epstein Barr se ha vinculado con LLA L3
- Edad de la madre cuando nace el niño.
- Antecedentes de uso de tabaco de los padres.
- Exposición fetal a hormonas (como dietilestilbestrol o pastillas anticonceptivas).
- Exposición a sustancias químicas y a solventes en el lugar de trabajo del padre.
- Contaminación química del agua subterránea.
- Dieta rica en nitratos.

Manifestaciones clínicas:

Las manifestaciones clínicas de la leucemia dependen del grado de insuficiencia de la médula ósea, de infiltración extramedular y de agudeza.

Cualquier órgano puede ser infiltrado por las células tumorales, pero esto es más frecuente en el hígado, el bazo y los ganglios linfáticos; con mucha menor frecuencia se afecta el sistema nervioso central, piel y mucosas, entre otros.

Los cuatro principales síndromes encontrados son:

- ❖ Síndrome anémico, que puede causar: fatiga, debilidad, mareo, cefalea, disnea y palidez.
- ❖ Síndrome febril: es a menudo el principal signo de infección, ya que podemos encontrar infecciones recurrentes.

- ❖ Síndrome hemorrágico: causado por disminución en el recuento de plaquetas, hematomas, equimosis y petequias, epistaxis frecuentes o severas, sangrado en encías
- ❖ Síndrome infiltrativo: Hígado y bazo aumentan de tamaño. Adenomegalias cervicales, axilares, supraclaviculares, inguinales. Masas mediastinales, observada en 7 a 10% de niños, que se localiza en el mediastino anterior como resultado de infiltración del timo.⁽¹⁰⁾ Esta masa puede llegar a comprimir los grandes vasos y la tráquea e incluso ocasionar síndrome de vena cava superior o síndrome mediastínico superior, que se manifiesta con tos, disnea, ortopnea, disfagia, estridor, cianosis, edema facial, aumento de la tensión intracraneal y, en ocasiones, síncope.

Otros síntomas que podemos encontrar son:⁽¹¹⁾

- Artralgias: por la acumulación de células leucémicas cerca de la superficie del hueso o dentro de la articulación.
- Anorexia o hiporexia: la hepato y esplenomegalia pueden presionar otros órganos, como el estómago, produciendo pérdida de apetito y pérdida de peso con el tiempo.
- Engrosamiento escrotal: que puede ser signo de leucemia testicular o hidrocele secundario a obstrucción linfática.
- Afecciones oculares: como infiltración leucémica de la órbita, retina, córnea, nervio óptico o conjuntiva.

Diagnóstico:

Para orientarnos al diagnóstico es indispensable realizar varios estudios:

- Biometría hemática
- Química sanguínea
- Electrolitos séricos completos. La hipercalcemia es rara, pero cuando aparece se debe a una proteína similar a la hormona paratiroidea que proviene de la infiltración leucémica del hueso.
- Pruebas de la función hepática. Dehidrogenasa láctica (DHL) y ácido úrico. Las concentraciones séricas de DHL son elevadas en la mayoría de los pacientes y se relacionan con el grado de infiltración leucémica y es un marcador determinante para el pronóstico de la enfermedad. El aumento de las concentraciones séricas de ácido úrico es común cuando hay gran carga leucémica, pues refleja aumento del catabolismo de las purinas.⁽¹²⁾
- Radiografía de tórax es necesaria para detectar crecimiento del timo, de ganglios y masas mediastínicas, o derrame pleural.
- La ultrasonografía es útil para valorar la manifestación de hepatoesplenomegalia que no se detecta en clínica o edema testicular.
- La tomografía nos sirve para localizar ganglios retroperitoneales.
- La punción lumbar. De forma habitual, la leucemia del sistema nervioso central se define por la aparición de al menos cinco leucocitos por microlitro

de líquido cefalorraquídeo con células blásticas, mediante prueba centrifugada.

- El procedimiento diagnóstico por excelencia es el aspirado de médula ósea, pues sirve para el estudio morfológico de las células de la médula.⁽⁶⁾
- Citometría de flujo e inmunohistoquímica: Determinar el inmunofenotipo de las células leucémicas basándose en ciertas proteínas presentes en o sobre las células. Este tipo de prueba es muy útil para determinar el tipo exacto de leucemia. La citometría de flujo también se usa para calcular la cantidad de ADN en las células leucémicas. Las células con más ADN de lo normal (un índice de ADN de 1.16 o más) con frecuencia son más sensibles a la quimioterapia y estas leucemias tienen un mejor pronóstico.
- Estudio citogenético. Es la identificación de alteraciones cromosómicas de valor pronóstico. Como alternativa se utiliza la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), ya que tiene alta sensibilidad, cuando hay muy pocas células leucémicas en una muestra.

Como ya se mencionó, el estándar de oro para el diagnóstico de LLA es el aspirado de médula ósea, de donde se obtiene una muestra para realizar estudios de morfología, citoquímica, fenotipo, cariotipo y/o de biología molecular.

Con base en las características morfológicas de los linfoblastos, la LLA se clasifica, de acuerdo al Grupo Cooperativo Franco-Americano-Británico (FAB).⁽¹³⁾

- 1) LLA típica o LLA-L1: en 75% de los casos con células B y anomalías citogenéticas t (9:22), t (4:11) y t (1:19).
- 2) LLA atípica o LLA-L2: en 20%, y puede estar representada por células T y anomalías citogenéticas 14q11 o 7q34.
- 3) LLA parecida al linfoma de Burkitt o LLA-L3: con células B en 95% y células similares al linfoma de Burkitt que tiene t(8:14), t(8:22), t(2:8).

El fenotipo más común en pacientes con LLA corresponde al de células precursoras B y representa el 80-85% de los casos de LLA infantil. El inmunofenotipo T se asocia con características clínicas de mal pronóstico.⁽¹⁴⁾

Factores pronósticos

Existen factores pronósticos que se incluyen para determinar si la LAL es de alto o bajo riesgo, entre ellos encontramos:

- ◇ Edad. Los niños menores de un año y los niños mayores de 10 años se consideran pacientes de alto riesgo, se emplea un tratamiento más agresivo.
- ◇ Género. Las niñas tienen mayores probabilidades de curarse que los niños, debido a los episodios de recaídas testiculares y, además, los niños tienen mayor riesgo de recaídas.
- ◇ Raza. Los niños de raza negra y los niños hispanos con leucemia linfocítica aguda tienen una tasa de cura más baja que los niños de otras razas
- ◇ Recuento leucocitario: Un conteo de 50,000 células por mm³ se relaciona con peor pronóstico

- ◇ Inmunofenotipo de las células leucémicas: Los niños con leucemia aguda de células pre B o Pre B tempranas tienen mejor respuesta al tratamiento.
- ◇ Enfermedad extramedular: Si hay infiltración a sistema nervioso o testículos, el pronóstico es desfavorable.

Citogenética.

La investigación citogenética resulta imprescindible en el tratamiento de pacientes pediátricos con LLA. El análisis de los cromosomas en metafase permite el cribado de todo el genoma, detectando cambios cromosómicos que implican genes responsables de la transformación neoplásica de las células linfoides. El mayor impacto en el tratamiento de niños con LLA ha sido la demostración de que las anomalías cromosómicas son un indicador pronóstico independiente de otras variables (edad, recuento de leucocitos y fenotipo). El 80 % de los niños con LLA muestran cariotipos alterados en el número de cromosomas (ploidía) o como cambios estructurales: translocaciones, inversiones o deleciones que tienen una gran importancia pronóstica.⁽¹⁵⁾

ALTERACIONES CROMOSÓMICAS NUMÉRICAS

La LLA puede clasificarse en cuatro subgrupos, basándose en el número modal de cromosomas en las células leucémicas: hiperdiploidía (cariotipos con más de 46 cromosomas); pseudodiploidía (46 cromosomas con alteraciones estructurales); diploidía normal (46 cromosomas normales) e hipodiploidía (menos de 46 cromosomas).

HIPERDIPLOIDÍA

El 25-30% de los niños con LLA presentan hiperdiploidía de más de 50 cromosomas. Aunque la mayoría de los cromosomas están implicados, ciertos cariotipos parecen ser prevalentes, desconociendo el significado de los mecanismos para la ganancia preferencial de ciertos cromosomas.

El cromosoma 21 es el más frecuente involucrado, seguido de los cromosomas 6, 4, 8, 10 y 14.⁽¹⁶⁾ Los pacientes con hiperdiploidía de más de 50 cromosomas presentan factores de buen pronóstico: edad entre 2 y 10 años, recuento leucocitario menor $10 \times 10^9/l$, morfología L1 y un fenotipo inmaduro pre-B (CD10+). Más de la mitad de los casos presentan, además, alteraciones estructurales. El porcentaje de curación para estos pacientes oscila entre el 75 y el 80%, aunque el pronóstico es menos favorable para los que presentan alteraciones estructurales.

El grupo de 47-50 cromosomas representa el 13 % de los casos; la mayoría tienen 47 cromosomas. Este grupo se asocia con mayor frecuencia a alteraciones estructurales (1q, 6q, 12p, 19p). Clínicamente presentan leucocitosis, altos valores de DHL y mayor edad.⁽¹⁷⁾

HIPODIPLOIDÍA

Los cariotipos con menos de 46 cromosomas son poco frecuentes, detectándose en el 7-9% de los casos; la mayoría presentan 45 cromosomas con una alta incidencia de alteraciones estructurales. La hipodiploidía puede deberse a la pérdida completa de cromosomas, translocaciones desequilibradas o cromosomas dicéntricos. La pérdida del cromosoma 20 es lo más frecuente. Se asocia a una supervivencia corta, pese a tratamientos intensivos. Los casos raros de hipodiploidías de menos de 30 cromosomas tienen una media de supervivencia de once meses.⁽¹⁸⁾

SEUDODIPLOIDÍA

En todas las series es el grupo mayoritario con una incidencia del 30-40%, caracterizado por 46 cromosomas con alteraciones estructurales. Se le define como un subgrupo de alto riesgo con una edad superior a los diez años, mayor incidencia de subtipos morfológicos L2 y L3, alto recuento de leucocitos y DHL. El peor pronóstico de este grupo es probablemente un reflejo de las alteraciones cromosómicas estructurales.⁽¹⁹⁾

DIPLOIDÍA NORMAL

El porcentaje de pacientes con cariotipo normal actualmente es del 26 %, los cariotipos normales se detectan más en pacientes con LLA-T. El pronóstico para este grupo parece ser intermedio entre la hiperdiploidía de más de 50 cromosomas y laseudodiploidía.

ALTERACIONES CROMOSÓMICAS ESTRUCTURALES

Las alteraciones estructurales se detectan en más del 60% de los casos y prácticamente en todos ellos se trata de alteraciones primarias, es decir, alteraciones que no tienen lugar al azar, sino que afectan regiones cromosómicas donde, en la mayoría de los casos, se localizan oncogenes celulares o genes supresores de tumores.

En el Cuadro No. 1 se muestran las alteraciones cromosómicas presentes en la LLA más frecuentes.

Cromosoma Filadelfia

El cromosoma Filadelfia (Ph) es el nombre dado al derivativo del cromosoma 22, resultado de la t(9;22)(q34;q11). Lo presentan el 5% de las LAL pediátricas. Más del 40% de estos niños presentan cambios adicionales que no parecen tener implicaciones en el pronóstico. Clínicamente, el cromosoma Filadelfia identifica un importante subgrupo caracterizado por una edad alta (>10 años), hiperleucocitosis, alta incidencia de morfología L2 y cariotipos preferentementeseudodiploides. La mayoría de los blastos con cromosoma filadelfia positivo presentan un fenotipo pre-B (inmunoglobulinas citoplásmicas negativas) aunque se han descrito casos con fenotipo T y leucemias bifenotípicas.⁽²⁰⁾

El pronóstico es malo, aun con tratamientos de quimioterapia intensiva, por lo que el trasplante alogénico de medula ósea o el trasplante de células progenitoras de

sangre periférica está indicado en todos los casos.⁽²¹⁾ La t(9;22) determina la formación del gen híbrido BCR/ABL.

La aplicación de técnicas citomoleculares (hibridación *in situ* fluorescente, FISH) para la detección de clones con Ph+, demuestra una alta sensibilidad en la detección del gen de fusión BCR/ABL con una especificidad entre el 95 y el 100%, permitiendo visualizar la fusión del gen, tanto en metafase como en interfase, cuantificar el clon Ph+ y, por lo tanto, conocer la respuesta al tratamiento.

Las técnicas moleculares (reacción en cadena de la polimerasa-transcripción inversa, RT-PCR) son más sensibles en la detección de enfermedad mínima residual (EMR), pudiendo detectar la fusión del gen con una sensibilidad de 10⁶. La persistencia de la clona Ph+ durante más de 6 meses después del trasplante es indicativo de un mal pronóstico.⁽²²⁾

Alteraciones cromosómicas estructurales de LLA más frecuentes

Alteración cromosómica	Genes implicados	Frecuencia	Fenotipo	Morfología(FAB)
8q24	c-myc	5%	B	L3
t(9;22)(q34;q11)	BCR/ABL	5%	Pre B	L1, L2
del (9q)(p21-22)	MTS1/MTS2	7%	B/T	L1, L2
11q23	MIL	3-10%	Inmaduro preB	
12p	TEL	27%	Pre B/T	L1,L2
14q11	TCR-alfa/delta	20%	T	L1>L2
t(1;19)(q23;p13)	PRX/E2A	25%	pre B	L1

Cuadro 1. ANALES ESPAÑOLES DE PEDIATRÍA. VOL. 55, N.º 1, 2001

Alteraciones en 11q23/LLA inmadura pre-B

Los reordenamientos del brazo largo del cromosoma 11 son mayoritariamente translocaciones recíprocas y se identifican en el 8-10 % de los niños con LLA.⁽²³⁾

La alteración más frecuente es la t(4;11)(q21,q23) seguida de la t(11;19)(q23;p13). Se han descrito translocaciones con otros muchos cromosomas, el denominador común es la interrupción o pérdida de función del gen localizado en 11q23. Asociada a un alto recuento de células blancas > 100 × 10⁹/L, organomegalias e implicación del sistema nervioso central. Es más frecuente en niños menores de 2 años y género femenino. Las células leucémicas tienen morfología L2 y fenotipo inmaduro pre-B (CD10-) con expresión frecuente de marcadores mieloides, lo cual sugiere que la translocación podría ocurrir en una célula pluripotencial con capacidad de diferenciación en ambos linajes, linfóide y mielóide.⁽²⁴⁾ El pronóstico de los pacientes es malo y únicamente el 75% consiguen la remisión completa. Las recaídas son precoces y la supervivencia es menor de dos años, por lo que el trasplante alogénico es el tratamiento de elección.⁽²⁵⁾

Su pronóstico va asociado a una edad joven, hiperleucocitosis y células blancas que coexpresan antígenos mieloides y linfoides.

Alteraciones en 19p13/LLA pre-B

Las dos translocaciones conocidas que implican la banda p13 del cromosoma 19 son la t(1;19)(q23;p13) y la t(17;19)(q21;p13). La t(1;19) se halla en el 25% de los niños con LAL pre-B y expresión de inmunoglobulinas citoplásmicas.⁽²⁶⁾

Existen dos formas de la translocación: la balanceada t(1;19)(q23;p13) y la desbalanceada, der(19)t(1;19), que resulta en una trisomía del brazo largo del cromosoma 1 y monosomía de la región distal del cromosoma 19p.

Las características clínicas de LAL pre-B con t(1;19) incluyen una edad media de 5 años, un recuento de células blancas de $21-28 \times 10^9/L$, altos valores de LDH y un índice de ADN < 1,6. Se asocia preferentemente con cariotipos pseudodiploides y una mala respuesta a tratamientos estándares.⁽²⁷⁾

La t(17;19) supone la fusión del gen E2A en 19p13 con el gen HLF en 17q22. Se han descrito muy pocos casos, con una edad media alta (14 años) y una supervivencia baja.

La t(8;14)(q24;q32) y variantes están asociadas específicamente con LLA-B madura. Representan el 5% de todos los casos de LAL infantil. La mayoría de los pacientes presentan enfermedad extramedular, con frecuente implicación del SNC y un curso clínico progresivo. Las células malignas se caracterizan por la expresión de inmunoglobulinas de superficie (IgS) y morfología L3. Alrededor del 65 % de los pacientes presentan la t(8;14)(q24;q32). Son menos frecuentes las variantes t(8;22)(q24;q11) con una prevalencia del 12 % y la t(2;8)(p12;q24) con un 8 % de incidencia.

LLA de linaje T

La mayoría de las anomalías cromosómicas vistas en LLA-T implican regiones cromosómicas donde están ubicados genes de los receptores de linfocitos T (TCR), 14q11-q13 (cadenas alfa y delta), 7q32-36 y 7p15 (cadenas beta y gamma). Las anomalías más comunes en linaje T son las t(1;14)(p32;q11), t(10;14)(q24;q11), t(11;14)(p13;q11) y t(7;9)(q34;q32) que originan la sobreexpresión de los oncogenes TAL1, HOX11, RHOM2, y TAL2, respectivamente.⁽²⁸⁾ Sin embargo, sólo el 30% de los pacientes con LAL-T tienen alteraciones en genes del TCR, las características clínicas; el 50% presentan masa mediastínica, alto recuento de leucocitos (valor medio de $50 \times 10^9/L$), afectación del SNC y mayor incidencia en varones menores de 9 años.

La incidencia de cariotipos normales en LLA-T oscila entre el 30 y el 40%.

Linaje inespecífico del (6q)

Las deleciones 6q se detectan en el 4-6 % de los niños con LLA, y se acompañan con frecuencia de otras alteraciones cariotípicas. No se asocian a un inmunofenotipo específico, las alteraciones se presentan con mayor incidencia en LLA-T.⁽²⁹⁾ Las deleciones pueden ser intersticiales (6q13-q21) o terminales (6q21-q23) pero siempre implican a la región 6q21.

Alteraciones en 9p

Las alteraciones del brazo corto del cromosoma 9 se identifican en el 7-12% de los casos infantiles con LLA. Los niños afectados por esta anomalía presentan mayoritariamente blastos de estirpe T, linfadenopatías, esplenomegalia, hiperleucocitosis, edad de más de 10 años e implicación del sistema nervioso.⁽³⁰⁾

Las alteraciones en 9p incluyen deleciones, translocaciones desbalanceadas o pérdida de todo un cromosoma. La región cromosómicamente implicada es 9p21-p22 donde están ubicados los genes de interferón (IFNA e IFNB1) y los genes p16INK4A y p15INK4B que codifican proteínas que inhiben el ciclo de las cinasas desempeñando un papel crucial en la progresión del ciclo celular, siendo genes supresores de tumor.

Se han descrito casos en pacientes con inmunofenotipo de LLA inmadura pre-B, pero con un tiempo de seguimiento corto para determinar el significado pronóstico de estas alteraciones citogenéticas.

Alteraciones del brazo corto del cromosoma 12

Las alteraciones cromosómicas del brazo corto del cromosoma 12 incluyen deleciones y translocaciones con distintos cromosomas donadores 1, 3, 9, 10, 17.⁽³¹⁾ La mayoría de los casos son pre-B con morfología L1 y un recuento medio de leucocitos de $3 \times 10^9/l$. El denominador común de estos reordenamientos es el punto de rotura 12p13, región cromosómica donde se encuentra ubicado el gen TEL. Se han identificado TEL/MEN1 en t(12;22)(p13;q11), y TEL/ABL en t(9;12)(q34;p13)⁽³²⁾. Esta alteración se encuentra entre el 23 y el 27% siendo la alteración cariotípica más común en pacientes pediátricos. Es posible además que muchos casos descritos como del(12p) sean realmente translocaciones. Las alteraciones en 12p determinan un mejor pronóstico que el resto de las anomalías.

Cambios cromosómicos no establecidos

Se ha encontrado que el 82% de los niños presentan cambios estructurales, de los cuales el 40% son cambios cromosómicos muy heterogéneos que constituyen alteraciones citogenéticas secundarias, no específicas de LLA. Su valor pronóstico no está bien definido. Estos cambios secundarios pueden implicar cualquier autosoma.

La mayoría son desequilibrados, conduciendo a pérdidas de material genético, adiciones, isocromosomas y translocaciones complejas que determinan la presencia de cromosomas marcadores. Esta heterogeneidad demuestra que existen distintas configuraciones citogenéticas que confieren ventajas proliferativas secundarias a las células tumorales o son el resultado de un fracaso en la apoptosis.

Parece claro, por lo tanto, que genes con potencial oncogénico se encuentran por todo el genoma y la formación de proteínas aberrantes puede resultar de reordenamientos cromosómicos en muy diversas localizaciones.

3.1 JUSTIFICACIÓN:

La LLA es el cáncer más frecuente en la edad pediátrica, por lo que es de suma importancia identificar las alteraciones cromosómicas que determinan el riesgo. Se clasifica en alto o bajo riesgo, junto con otros factores como edad, número de leucocitos al diagnóstico, infiltración extramedular, inmunofenotipo y género. Todo esto será tomado en cuenta para determinar el tipo de tratamiento que utilizaremos en cada paciente.

PREGUNTA DE INVESTIGACION:

¿Qué alteraciones cromosómicas se detectan en niños con Leucemia Linfoblástica Aguda de *novo* que sean de importancia para clasificarlos en pacientes de alto o bajo riesgo?

3.2 OBJETIVO

OBJETIVO GENERAL

Identificar alteraciones cromosómicas que tienen valor pronóstico en pacientes pediátricos con LLA por medio de citogenética clásica.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Identificar las ganancias y/o alteraciones cromosómicas presentes en pacientes con LLA de *novo* en edad pediátrica.
2. Aplicar técnicas alternativas de citogenética, como la hibridación *in situ* con fluorescencia (FISH) y/o PCR, para identificar alteraciones cromosómicas en caso de falla.
3. Correlacionar los datos clínicos al diagnóstico con las alteraciones cromosómicas reportadas.

3.3 MATERIAL Y METODO

Población de estudio

Se incluyen pacientes pediátricos con diagnóstico de *novo* de LLA, atendidos por el Servicio de Oncopediatría, del Hospital Juárez de México.

3.3.1 Lugar de estudio

Servicio de Oncopediatría del Hospital Juárez de México y Laboratorio 3 de Genética y Diagnóstico Molecular.

3.3.2 Tiempo: Mayo 2014- Mayo 2015.

3.3.3 Criterios de inclusión:

- Diagnóstico de LLA de *novo*.
- Sin tratamiento.
- Edad: 0- 18 años
- Género: indistinto.
- Firma de la carta de asentimiento y consentimiento informado.

3.3.4 Criterios de exclusión.

- Diagnóstico diferente LLA o secundaria.
- Cuando falte una carta de consentimiento.
- Cuando presente una alteración específica.

3.3.5 Criterios de eliminación.

- Aquellos donde la muestra es insuficiente, para realizar el cariotipo.
- Retiran el consentimiento y asentimiento informado.

Método

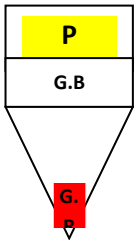
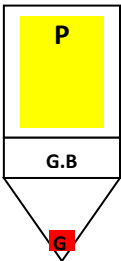
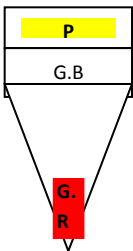
❖ Citogenética de médula ósea

Manejo de muestra.

- Se colocaron 3-5 mL de médula ósea en un tubo estéril con heparina sódica.

Cultivo celular.

- Se limpió la campana de flujo laminar con hipoclorito de sodio al 5%, agua bidestilada y etanol al 75%.
- Se esterilizaron por radiación ultravioleta (UV) en un tiempo de 15 minutos; tubos de 15 mL, gasas y guantes de látex.
- Se centrifugó a 2500 rpm la muestra por cinco minutos.
- Se hizo una relación con respecto a la cantidad de glóbulos rojos(G.R), glóbulos blancos(G.B) y plasma(P):

Muestra			
Cantidad	25-30 gotas 24 horas	3 gotas 24 horas	25-30 gotas 24 horas
	15 gotas 48 horas	2 gotas 48 horas	15 gotas 48 horas
	7 gotas 72 horas	1-2 gotas 72 horas	7 gotas 72 horas

- Se realizó el cultivo celular en un tubo de 15 mL por duplicado, con: 5 mL del medio RPMI-1640 (suplementado con 10% de suero fetal bovino y 0.2 mL de antibiótico) y la muestra.
- Se homogenizó la muestra, se incubó al 5% de CO₂ a 37°C y se sacó en 48 horas.

Cosecha de la muestra.

- Se incubó a 37°C la solución hipotónica por 15 minutos, se sacó hasta su uso.
- Se homogenizaron las muestras y se agregaron 50 µL de bromuro de etidio

y se incubó por dos horas a 37°C.

- Se agregaron dos gotas de colchicina (1mg) (BioVisión) a cada muestra, se mezcló por inversión y se volvió a colocar en la incubadora de CO₂ al 5% por 15min.
- Se centrifugaron las muestras cinco minutos a 2500 rpm a temperatura ambiente (25°C).
- Se desechó el sobrenadante y se agregó la solución hipotónica (KCl) (0.075M) hasta llegar a 8 mL. Se homogenizaron las muestras.
- Se incubaron a 37°C durante 40 minutos.
- Se centrifugaron las muestras por cinco minutos a 2500 rpm a temperatura ambiente.
- Se desechó el sobrenadante y se agregó la solución de Carnoy (ácido acético y etanol en proporción 1:3) (previamente mezclado por vortex el botón) hasta llegar a 5 mL.
- Se reposaron las muestras 15 minutos a temperatura ambiente.
- Se centrifugaron las muestras y se retiró el sobrenadante.
- Se empezaron los lavados de la muestra con la solución Carnoy aforado a 5 mL y así hasta cuatro lavados; si quedó turbia la muestra se realizó un nuevo lavado.
- A la pastilla o el botón celular formado se le agregó 0.5 mL de fijador.
- Goteo de laminillas.
- Se sacaron las laminillas del congelador.
- Se encendió la plancha y se colocó una toallita de papel mojada.
- Se colocó la laminilla en un vaso de agua (previamente desengrasada).
- Se resuspendió el sedimento celular con una pipeta Pasteur y se depositó la muestra en una laminilla verticalmente
- Se tomó la muestra con la pipeta Pasteur y se depositó en la laminilla de tipo barrido con una pipeta. Se etiquetó para evitar confusiones.
- Se colocaron las laminillas en la plancha para su secado.
- Las laminillas ya etiquetadas se colocaron en el porta-laminillas, se incubaron a 37°C durante 48 horas para madurar éstas.

- Se sacaron las laminillas y se verificó la presencia de metafases, también si son adecuadas para el análisis de citogenética.
- Se almacenaron al mismo tiempo tres laminillas a -70°C para su posterior uso.

Técnica de Bando G

- Se sumergió la laminilla en una solución preparada con buffer de pH 7 y Tripsina por 30 segundos.
- Se lavó la lámina con agua destilada.
- Se sumergió la laminilla en la solución buffer de pH 7 por 15 segundos.
- Se sumergió la laminilla en la solución preparada con pH 6.8 y colorante de Giemsa por 20 segundos.
- Se sumergió la laminilla en la solución preparada con pH 6.8 y colorante de Wrigth por diez segundos.
- Se secó haciendo compresión para absorber el exceso de agua.
- Se leyó en microscopía de contraste de fases.
- Se armó el cariotipo.

Criterios para la valoración del análisis citogenético.

Se considera una clona cuando:

- 3 o más metafases, repiten el mismo cromosoma extra.
- 2 o más metafases, presentan la misma anomalía estructural.
- 3 o más metafases, sufren la pérdida del mismo cromosoma.

Revisión de la nomenclatura

La descripción de los cariotipos caracterizados mediante técnicas de citogenética convencional se ha realizado siguiendo las instrucciones descritas por el ISCN (International Standing Committee on Cytogenetic Nomenclature 2013).

Análisis cromosómico a través del Programa IKAROS

La búsqueda de metafases se realizó mediante un patrón fijo de barrido del portaobjetos con un objetivo de 10x, sin utilizar ningún método de selección previo. El análisis de cada una de las metafases se realizó con un objetivo plano de inmersión: la mayoría de las células anormales son las que tienen una mala morfología y las de mejor calidad son las células normales. Por ello es fundamental no hacer una selección de las metafases que se estudian atendiendo su calidad.

Programa IKAROS

El sistema de cariotipo IKAROS combina una interfaz de usuario gráfica intuitiva con una variedad de herramientas poderosas para proporcionar la flexibilidad, que es necesaria para analizar los cariotipos incluso los más complejos. (Figura 1).

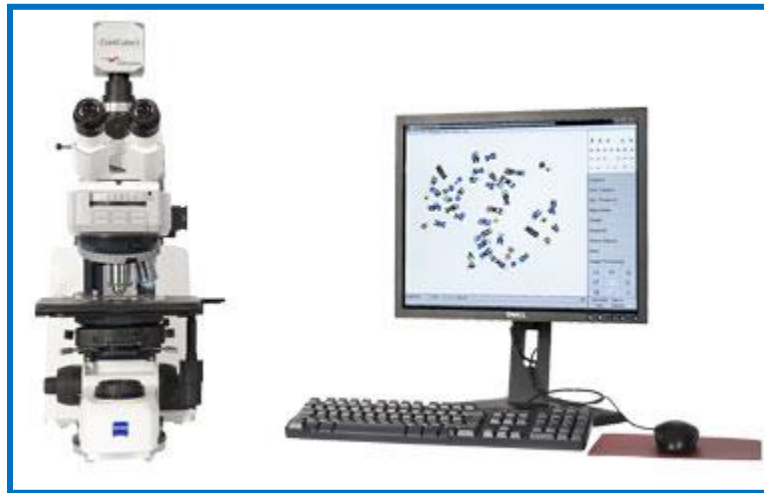


Figura 1. <http://www.metasystems-international.com/ikaros> Cámara MetaSystems CoolCube La cámara de alta resolución de 1,3 megapíxeles USB es compatible con todos los productos MetaSystems imagen. Es especialmente adecuado para situaciones de nivel de luz baja y de imágenes de fluorescencia. Tiene un consumo de energía extremadamente bajo, y un diseño de carcasa optimizada que mantiene el fresco sensor de imagen (12-Bit, 15 fps, 1360x1024 de resolución, 2.3 "sensor).

- Captura de imagen. El amplio campo de visión reduce la necesidad de capturas adicionales en el caso de metafases ampliamente extendidas.
- Procesamiento de imágenes automático después de captura. Son definidos por el usuario a simplificar de manera significativa la mejora de la imagen después de la captura.
- La separación de cromosomas y cariotipo. Es un procedimiento interactivo, que requiere un control directo del usuario. (Figura 2, 3, 4).
<http://www.metasystems-international.com/ikaros>.

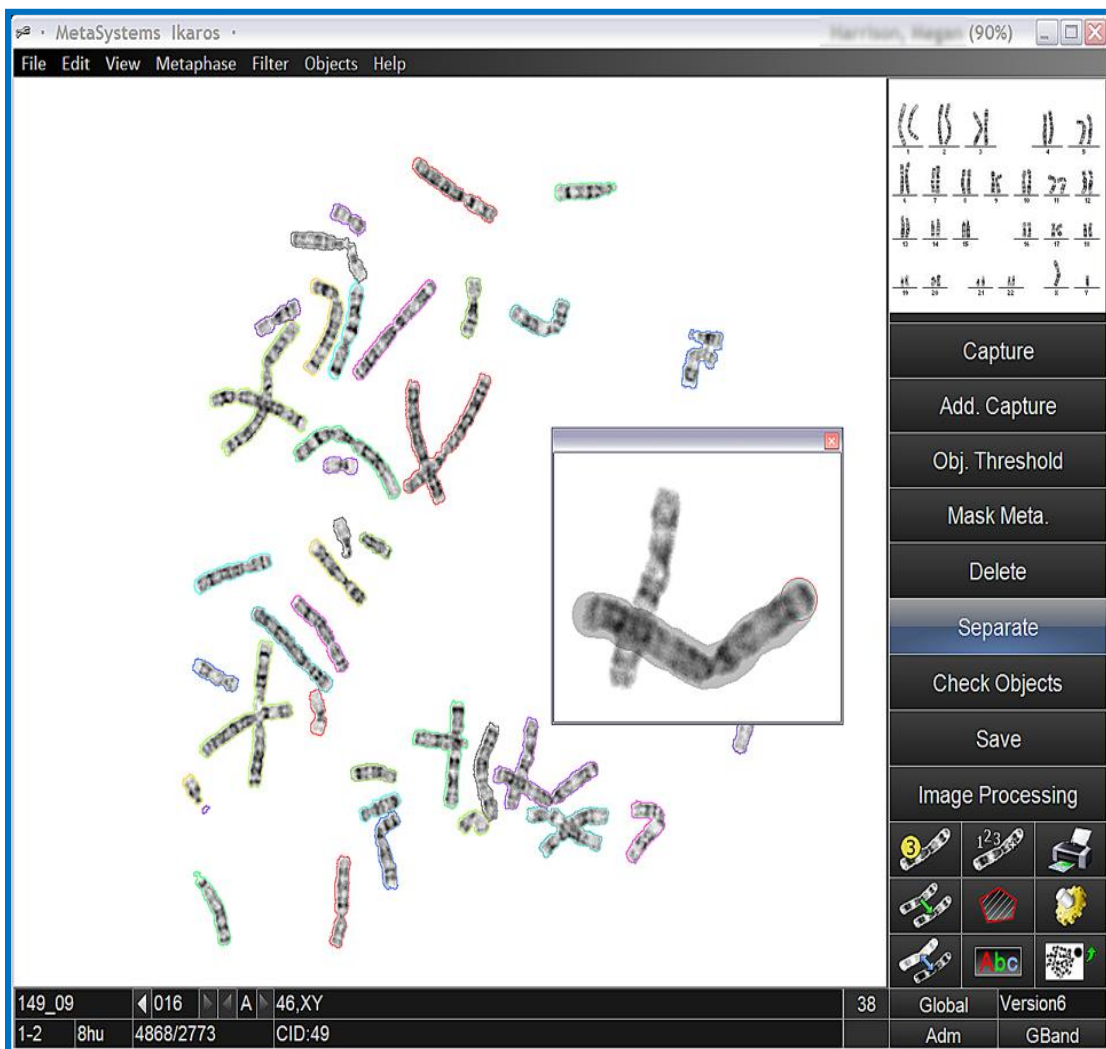


Figura 2. Separación de cromosomas a partir de metafase seleccionada para el cariotipo.
<http://www.metasystems-international.com/ikaros>.

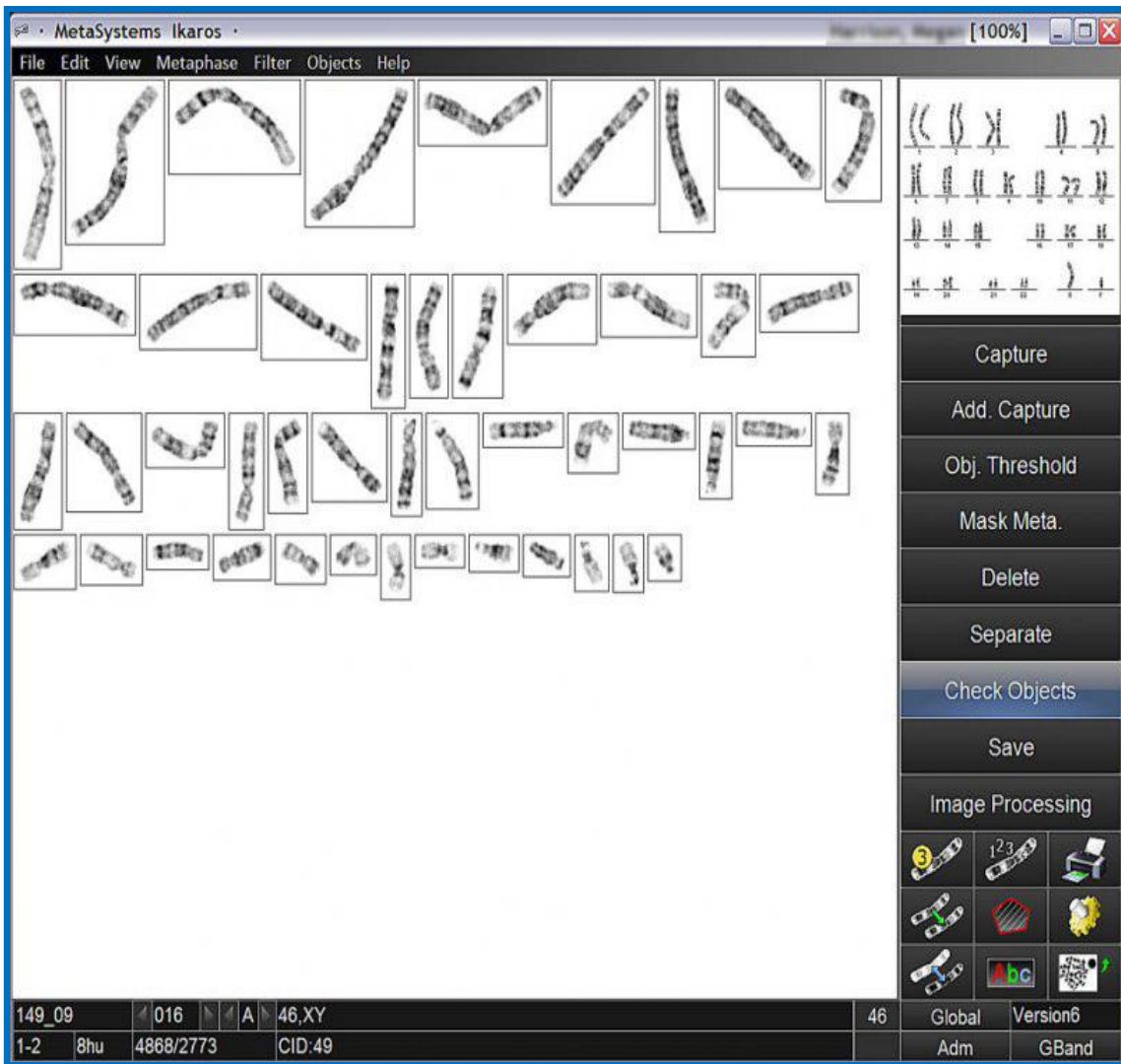


Figura 3. Separación final de cromosomas a partir de metafase seleccionada para el cariotipo. <http://www.metasystems-international.com/ikaros>.

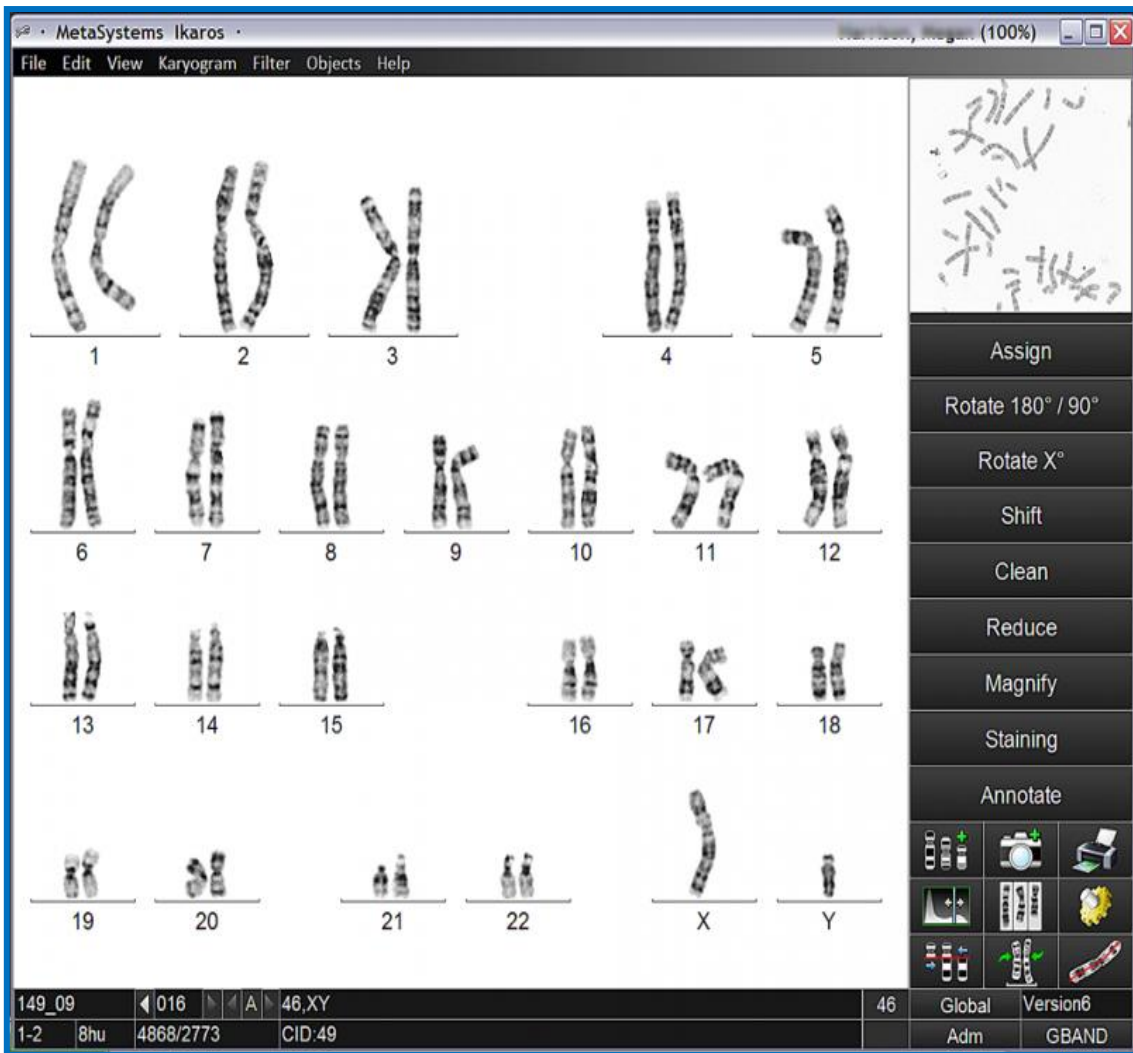


Figura 4. Clasificación de cromosomas a partir de metafase seleccionada para el cariotipo. <http://www.metasystems-international.com/ikaros>.

3.4 DISEÑO DE ESTUDIO

DEFINICION DE VARIABLE

DEPENDIENTE:

Leucemia linfoblástica aguda: Enfermedad maligna que se caracteriza por una proliferación descontrolada de células linfoides inmaduras que invaden la médula ósea, bloqueando la hematopoyesis normal, que se diagnostica de forma definitiva por aspirado de médula ósea donde se encuentre más de 25% de blastos.

INDEPENDIENTES:

Alteraciones cromosómicas: Cualquier alteración numérica o estructural detectada en el cariotipo del paciente con LAL a través de citogenética clásica.

Cuenta de leucocitos: Recuento total del número de leucocitos a través de biometría hemática expresado en células/mcl.

Porcentaje de linfoblastos al diagnóstico: Porcentaje de linfoblastos encontrados al momento del diagnóstico.

Edad: Se registra la edad en años al momento del diagnóstico.

Género: Caracteres sexuales externos que distinguen a un hombre y una mujer, registrándose al momento del ingreso.

Inmunofenotipo: Asignar el linaje a la proliferación blástica una vez definido el diagnóstico morfológico y es útil para predecir el comportamiento de las poblaciones linfocitarias

CONSIDERACIONES ETICAS: Este tipo de estudio es de investigación, sin riesgo, por lo que no falta a la ética.

3.5 RESULTADOS:

Se estudió a pacientes del servicio de oncopediatria del Hospital Juárez de México con cuadro clínico sugestivo de LLA en el periodo de agosto de 2014 a junio de 2015, encontrándose a diez pacientes con aspirado de médula ósea con un porcentaje mayor de 25% de blastos, de los cuales se muestra la distribución por género, correspondiendo el 70% a hombres y 30% mujeres

Tabla 1. Distribución de pacientes por género

Género	FRECUENCIA	PORCENTAJE
Masculino	7	70%
Femenino	3	30%
TOTAL	10	100%

GRAFICA 1.- Distribución por sexo

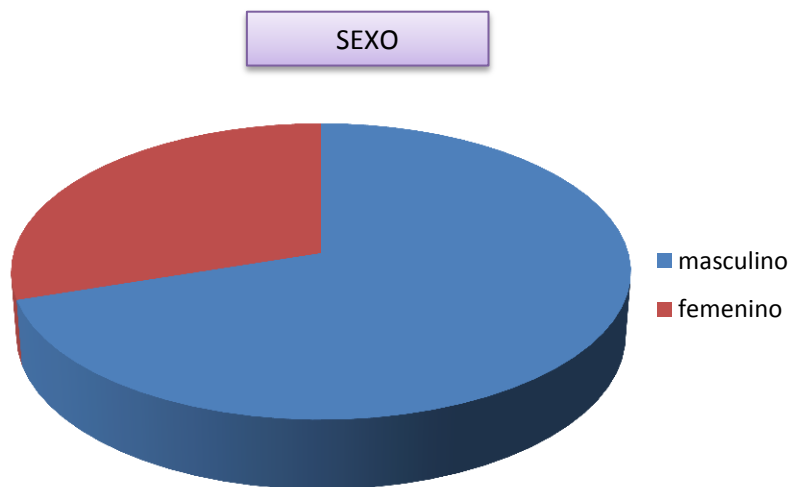
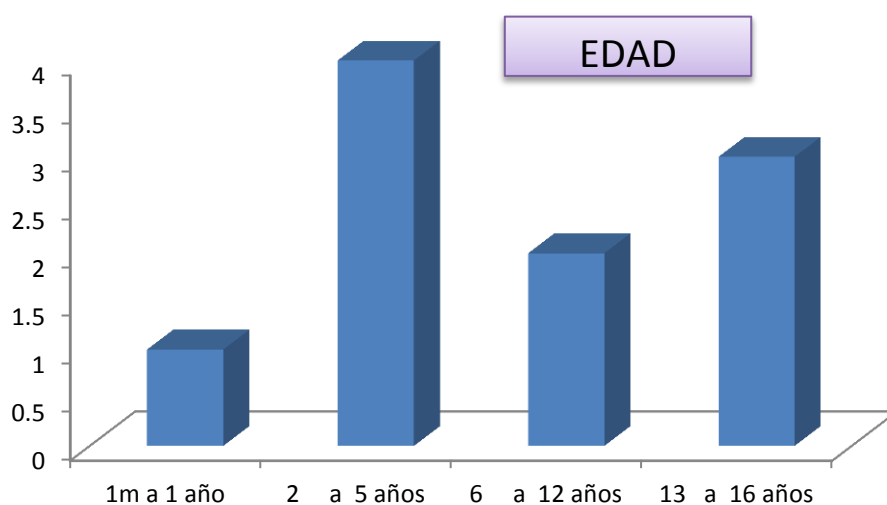


TABLA 2. Distribución por edades

Grupos etarios	Frecuencia	Porcentaje
1m a 1 año	1	10%
2 a 5 años	4	40%
6 a 12 años	2	20%
13 a 16 años	3	30%
TOTAL	10	100%

GRAFICA 2. Distribución por edades

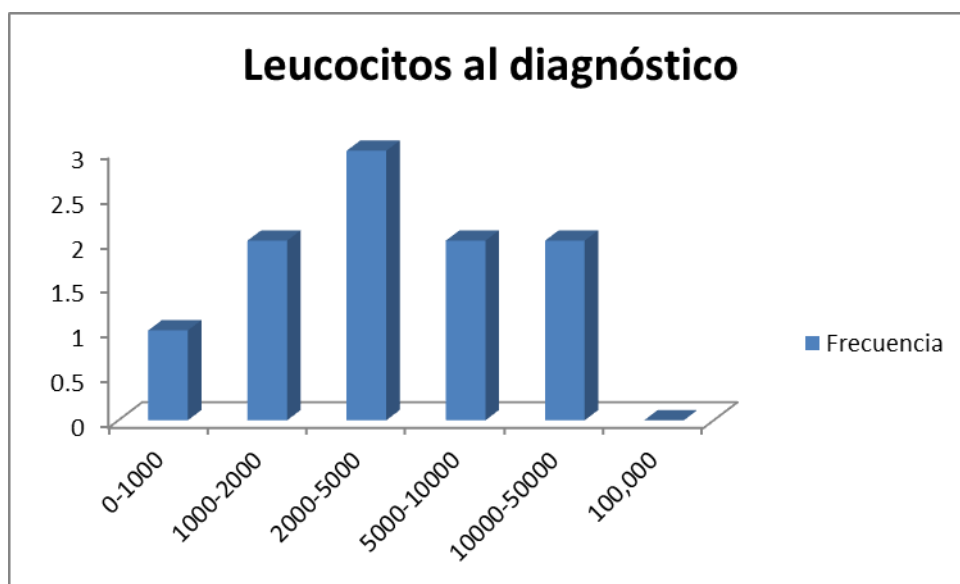


Se encontró que la mediana de la edad de presentación de la LLA es de ocho años; del total de la muestra, el 10% (n=1) corresponde a pacientes con edades entre un mes y un año con once meses, encontrándose el mayor porcentaje en preescolares de 2-5 años de edad, con un 40%, que corresponde a un total de la muestra de 4 (n=4), el grupo etario de 6 a 12 años con un 20% (n=2) y finalmente el grupo de adolescentes de 12 a 16 años un 30% (n=3), ocupando el segundo lugar

Tabla 3 Leucocitos al momento de hacer el diagnóstico

Leucocitos al diagnóstico	Frecuencia	Porcentaje
0-1000	1	10%
1000-2000	2	20%
2000-5000	3	30%
5000-10000	2	20%
10000-50000	2	20%
100,000	0	0%
Total	10	100%

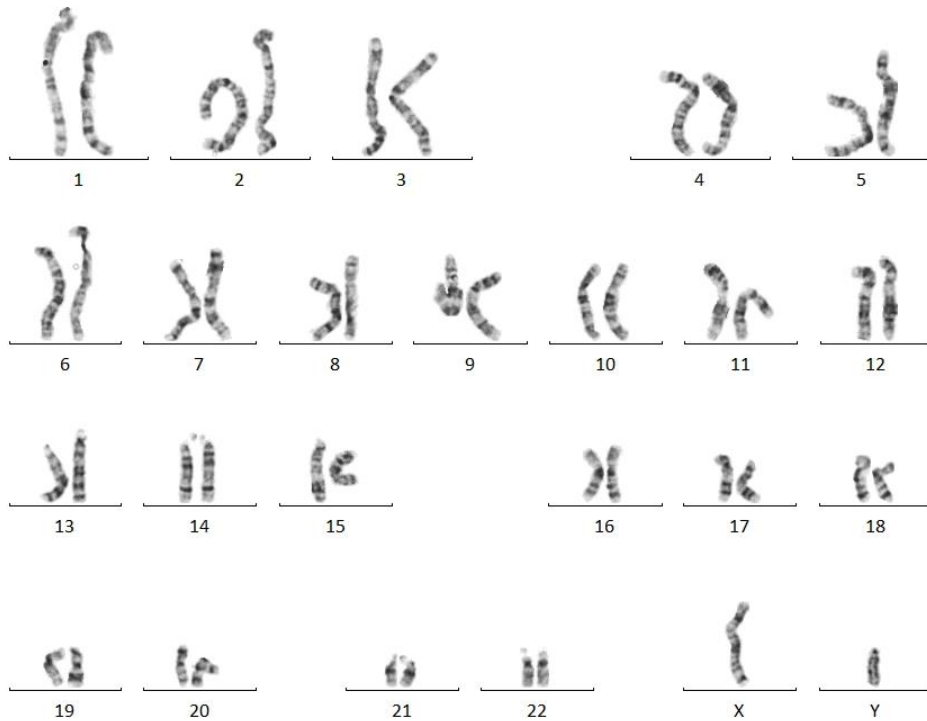
Gráfica 3 Leucocitos al Diagnóstico



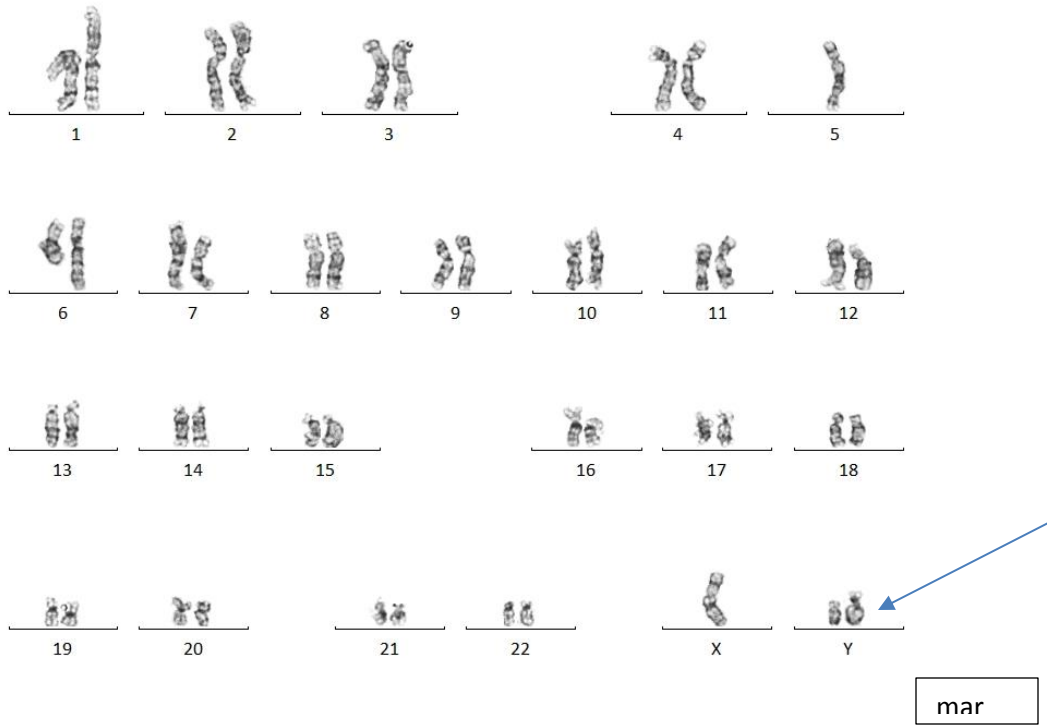
Como se observa, al momento del diagnóstico, ningún paciente presentó hiperleucocitosis; leucocitos al diagnóstico más de 100,000, encontrándose en promedio al diagnóstico de 9732 leucocitos, correspondiendo el mayor porcentaje al grupo entre 2000 y 5000 leucocitos, que corresponde al 30% de la muestra (n=3).

Tabla 4. Resultados de cariotipo

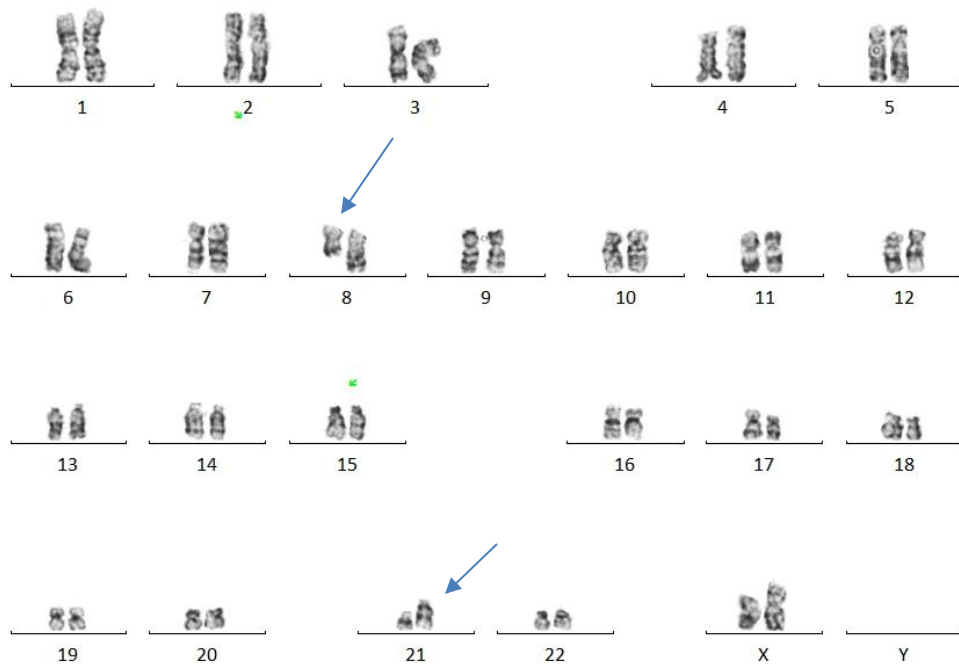
SEXO	LEUCOCITOS	LINFOBLASTOS	SUBTIPO	INMUNOFENOTIPO	CARIOTIPO
M	5500	64%	L2	Pre B	46,XY/47,XY,+mar
M	1610	94%	L2	pre B	46,XY
M	3770	96%	L2	pre B	46,XY
F	9020	81%	L2	Pre B	46,XX
M	4000	60%	L1-L2	Pre B	46,XY
M	610	90%	L2	Pre B	46,XY
F	47850	80%	L1	Pre B	46,XX
M	1740	97%	L1	Pre B	46,XY
M	20480	99%	L2	Pre B	46,XY
F	2740	96%	L2	Pre B	46,XX,t(8;21)(q24;q22)



CARIOTIPO; 46, XY



Cariotipo: 47,XY,+mar.



Cariotipo: 46,XX, t(8:21)(q24;q22)

4. DISCUSION

En el estudio que realizamos, se observó que la identificación del riesgo en los pacientes con LLA es de importancia y es vital realizar la clasificación en alto o bajo riesgo de acuerdo a la edad, cuenta de leucocitos al momento del diagnóstico, anormalidades genéticas, inmunofenotipo y el género.

La mayor parte de diagnóstico de LLA se detectó en el género masculino (70%), lo cual representa un riesgo alto de recaída por la infiltración a nivel testicular que pueden presentar, corroborando la estadística en nuestro país con una incidencia mayor en éste género⁽³³⁾

Debido a que la muestra es muy pequeña, no se pudieron observar alteraciones de valor pronóstico, pero se puede observar que los grupos de edades varían, y solo se tiene cuatro pacientes que tienen edad de buen pronóstico, encontrando a dos pacientes (20%) en alto riesgo, que son los mayores de diez años.

El cien por ciento de los pacientes correspondió a inmunofenotipo pre B, confiriendo un valor de buen pronóstico. Dentro de los subtipos según la clasificación FAB, el 70% corresponde a L2 y sólo un 20% al tipo L1.

Se calculó una media de leucocitos al momento del diagnóstico de 9732ul/dl, ningún paciente cursó con hiperleucocitosis; el porcentaje mayor lo ocupó el grupo entre 2000 y 5000 ul/dl leucocitos, encontrándose en el grupo de riesgo habitual.

Se encontraron sólo dos pacientes con alteraciones, una de ellas con un marcador que se desconoce el origen y otro paciente con una translocación 8;21; este tipo de alteración se asocia principalmente a la leucemia de estirpe T.

El 80% de los cariotipos fueron normales, pero no descarta que tengan alteraciones cripticas como la t(12;2) que no se puede observar por esta metodología, desafortunadamente no se pudieron realizar metodologías de citogenética molecular, ya que los cariotipos fueron en su gran mayoría normales.

No se encontraron alteraciones numéricas, por lo que no se pudo observar asociación entre el subtipo morfológico y el número de hiperdiploidías, como esta descrito.

Numerosos autores han propuesto que las alteraciones citogenéticas son uno de los factores independientes de riesgo más importantes en la sobrevida de pacientes con LLA. Una ventaja que tiene la citogenética contra otras metodologías de tipo molecular es que con ellas podemos detectar nuevas alteraciones no reportadas en la literatura⁽³⁴⁾

Como se observó con los resultados de éste estudio se corrobora lo reportado en la literatura nacional e internacional, con respecto a la epidemiología, la frecuencia de género y edad; por ser una muestra pequeña no se encontraron las alteraciones de cariotipo más frecuentes, pero la adecuada clasificación de ésta enfermedad nos permitirá brindarle al paciente una sobrevida mayor y un riesgo menor de recaída.

Un correcto diagnóstico de LLA debe incluir hoy en día no sólo la observación citomorfológica sino, además, el inmunofenotipo que permite una primera clasificación que ayuda a definir rápidamente la estrategia terapéutica, el análisis citogenético que brinda una amplia información sobre las alteraciones genéticas observadas, y el análisis por técnicas de biología molecular que aumenta la tasa de detección de los posibles cambios que podamos tener.

Desafortunadamente no se realizó una metodología molecular para identificar el marcador ya que no se contaban con sondas para realizarla.

5. CONCLUSION

La aplicación de los distintos métodos diagnósticos produce un aumento en el número total de casos caracterizados con una mayor sensibilidad, por lo cual es de gran importancia en la etapa diagnóstica de LLA con el fin de optimizar la estratificación del paciente de acuerdo a los grupos de riesgo. Esto tiene como principal objetivo lograr la adecuación del tratamiento, intensificándolo en aquellos con mayor riesgo de presentar recaídas y disminuyendo su intensidad en los grupos con mayores posibilidades de curación, para evitar las potenciales secuelas que una terapia agresiva puede ocasionar.

La citogenética convencional, complementada con estudios FISH, ha sido y es imprescindible para una correcta clasificación de LLA.

El cariotipo, además de ser una excelente herramienta pronóstica, ha conducido a estudios moleculares que han permitido una mayor comprensión patogénica de la LLA.

La continua aparición de nuevas y excitantes tecnologías moleculares y citogenéticas y su aplicación conjunta, permitirá el seguimiento de la enfermedad mínima residual de una forma más cómoda y exhaustiva y permitirá desarrollar nuevos agentes terapéuticos, que sean el blanco específico para interferir los productos de los genes aberrantes expresados en las células leucémicas.

El tratamiento de la LLA dirigido al riesgo, evaluado en el momento del diagnóstico, ha mejorado los porcentajes de supervivencia libre de eventos a cinco años en los niños con ésta enfermedad.

6. BIBLIOGRAFIA:

1. Ortega, Manuel et al. Leucemia Linfoblástica Aguda. Medigraphic, 2007, vol23 pp:23.
2. Mitelman F. Catalog of Chromosome Aberrations in Cancer. New York, NY:Wiley-Liss Inc 1998.
3. Vargas, Vallejo et al. Alteraciones citogenéticas en niños con Leucemia Linfoblástica Aguda. Redalyc. 2011, vol 17, núm. 1, pp. 25.
4. Heims S et al. Cancer Cytogenetics, 2ª ed. New York: Wiley-Liss; 1995; p. 181
5. Howlader N, et al. Cancer statistics review 1975-2008. National Cancer Institute. Online Surveillance Epidemiology and End Results
6. Dorantes, Elisa, et al. Comparación de las características clínicas al diagnóstico de niños con leucemia linfoblástica aguda afiliados al Seguro Popular, con respecto al desenlace. Bol. Med. Hosp. Infant. Mex. vol.69 no.3 México abr./jun. 2012
7. SINAVE/DGE/SALUD/Perfil epidemiológico de cáncer en niños y adolescentes en México. Secretaría de Salud. Junio de 2011.
8. American Cancer Society. Cancer Facts & Figures 2015. Atlanta, Ga: American Cancer Society; 2015.
9. Stiller CA, Chessells JM, Fitchett M. Neurofibromatosis and childhood leukaemia/lymphoma: a population-based UKCCSG study. Br J Cancer 1994;70:996-972.
10. Tefferi A, Killmann NM. Globalization of treatment strategies in leukemia: challenges and responsibilities. Leukemia 2008;22:1093-1094.
11. Campana D, Pui CH. Chapter 96: Childhood leukemia. Abeloff's Clinical Oncology. 5th ed. Philadelphia, Pa. Elsevier: 2014.
12. Mustafa M, et al. Epstein-Barr virus lymphoproliferative disorder in children with leukemia: case report and review of the literature. J Pediatr Hematol Oncol 1997;19(1):77-81.
13. Bennett JM, et al. The morphological classification of acute lymphoblastic leukaemia: concordance among observers and clinical correlations. Br J Haematol 1981;4:553-561.
14. Shuster JJ,, et al. Prognostic significance of sex in childhood Bprecursor acute lymphoblastic leukemia: a Pediatric Oncology Group Study. J Clin Oncol 1998;16:2854-2863.
15. Raimondi SC. Current status of cytogenetic research in childhood acute lymphoblastic leukemia. Blood 1993; 81: 2237-2250.
16. Pui CH. Childhood leukemias. N Engl J Med 1995; 332: 1618-1630.
17. Raimondi SC, et al, Hyperdiploid (47-50) acute lymphoblastic leukemia in children. Blood 1992; 79: 3245-3247.
18. Carroll AJ, et al. Clinical presentation, karyotypic characterization, and treatment outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia with a near-haploid or hypodiploid < 45 line. Blood 1990; 75:1170-1177.
19. Crist WM. Cytogenetic abnormalities in childhood acute lymphoblastic leukemia correlates with clinical features and treatment outcome. Leukemia and Lymphoma 1992; 7:259-275
20. Crist WM,et al. Philadelphia chromosome positive childhood acute lymphoblastic leukemia: Clinical and cytogenetic characteristics and treatment outcome: A Pediatric Oncology Group Study. Blood 1990; 76: 489-494.
21. Fletcher JA,et al. Translocation t(9;22) is associated with extremely poor prognosis in intensively treated children with acute lymphoblastic leukemia. Blood 1991; 77: 435-439.

22. Harrison CJ. The management of patients with leukemia: The role of cytogenetics in this molecular era. *Br J Haematol* 2000;108: 19-30.
23. Collaborative study of karyotypes in childhood acute lymphoblastic leukemia. 1993; 7: 10-21.
24. Ziemin-Van der Poel S, et al. Identification of a gene, MLL, that spans the breakpoint in 11q23 translocations associated with human leukemias. *USA* 1991; 88: 10735- 10737.
25. Stong RC, et al. Human acute leukemia cell line with the t(4;11) chromosomal rearrangement exhibits B lineage and monocytic characteristics. *Blood* 1985; 65: 26-31.
26. Pui CH, Raimondi et al. Immunologic, cytogenetic, and clinical characterization of childhood acute lymphoblastic leukemia with the t(1;9)(q23;p13) or its derivative. *J Clin Oncol* 1994; 12: 2601-2606.
27. Crist WM, et al. Poor prognosis of children with pre-B acute lymphoblastic leukemia is associated with the t(1;19)(q23,p13). A Pediatric Oncology Group Study. *Blood* 1990; 8: 1380-1384.
28. Marco Buades J, et al. Aplicaciones de la fluorescencia con hibridación in situ (FISH) en la leucemia linfoblástica aguda. *Sangre* 1999; 44: 273-281.
29. Hayashi Y, et al. Abnormalities of the long arm of chromosome 6 in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1990; 76: 1626-1630.
30. Murphy SB, et al. Nonrandom abnormalities of chromosome 9p in childhood acute lymphoblastic leukemia: association with high-risk clinical features. *Blood* 1989; 74: 409-415.
31. Raimondi SC, et al. Nonrandom involvement of the 12p12 breakpoint in chromosome abnormalities of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 1986; 68: 69-74.
32. Janssen JW, et al. The fusion of TEL and ABL in human acute lymphoblastic leukemia is a rare event. *Br J Haematol* 1995; 90: 222-228.
33. Tirado y Mohar. Epidemiología de las neoplasias Hemato-Oncológicas. *Cancerología* 2(2007-):109-120.
34. Heim S, Mitelman F. *Cancer Cytogenetics*, 2.^a ed. New York: Wiley-Liss, 1995.