

10  
243

# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



## "ESTUDIO CITOGENETICO EN PACIENTES CON LEUCEMIA AGUDA"

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
QUIMICO FARMACEUTICO BILOGO  
P R E S E N T A:  
ROSA MARIA ARANA TREJO

TESIS CON  
FALSA DE ORIGEN

1 9 9 0



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **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 está 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.

# TESIS CON FALLA DE ORIGEN

# INDICE

Capitulos	Págs.
1. INTRODUCCION .....	1
2. CLASIFICACION DE LEUCEMIAS AGUDAS	
2.1 Leucemia Linfoblástica Aguda .....	3
2.1.1 Clasificación del FAB .....	6
2.1.2 Clasificación Inmunológica .....	6
2.1.3 Clasificación del MIC .....	9
2.2 Leucemia Mieloblástica Aguda .....	11
2.2.1 Clasificación del FAB .....	12
2.2.2 Clasificación Inmunológica .....	13
2.2.3 Clasificación del MIC .....	16
3. ETIOLOGIA DE LEUCEMIAS AGUDAS	
3.1 Factores Genéticos .....	19
3.1.1 Origen Monoclonal de la Leucemia .....	19
3.1.2 Factores Hereditarios .....	20
A. Aneuploidías que predisponen al desarrollo de leucemia .....	21
3.1.3 Oncogenes .....	22
3.1.4 Mecanismos de Activación de Oncogenes .....	23
3.1.5 Sitios Frágiles .....	27
A. Sitios Frágiles Raros .....	28
B. Sitios Frágiles Comunes o Constitutivos ..	28
C. Sitios Frágiles y Rearreglos Cromosómicos en Leucemias Agudas .....	30

3.2 Factores Biológicos	
3.2.1 Virus	32
3.3 Factores Físicos	36
3.4 Factores Químicos	38
3.4.1 Fármacos Antineoplásicos	39
4. REARREGLOS CROMOSÓMICOS EN LEUCEMIAS AGUDAS	
4.1 Antecedentes Históricos	41
4.2 Metodología Citogenética	42
4.3 Nomenclatura	44
4.4 Rearreglos Cromosómicos en Leucemia Linfoblástica Aguda	46
4.4.1 Anormalidades Numéricas	46
A. Hiperdiploidia	46
B. Hipodiploidia y casi haploidia en LLA	47
4.4.2 Anormalidades Estructurales	50
A. t(1;19)(q23;p23)	50
B. t(4;11)(q21;q23)	50
C. t(9;22)(q34;q11)	51
D. t(8;14)(q24;q32), t(8;22)(q24;q11) y t(2;18)(p12;q24)	56
E. del (6q)	58
F. t(9;v)(p21;v) o del (9)(p21)	59
G. t(12;v)(p12;v) o del (12)(p12)	59
H. t(7;v) o del (7q)	60
I. t(8;14)(q24;q11), t(10;14)(q24;q11) y t(11;14)(p13;q11)	61
4.5 Rearreglos Cromosómicos en Leucemia Mieloblástica Aguda	63

4.5.1 Anormalidades Numéricas .....	63
4.5.2 Alteraciones Estructurales .....	66
A. t(8;21)(q11;q22) en LMA-M2 .....	67
B. t(15;17) en leucemia promielocítica aguda (M3) .....	69
C. Rearreglos estructurales del cromosoma 16 en LMA-M4 con eosinofilia de médula ósea .....	70
D. t(6;9)(p23;q34) y basofilia de médula ósea .....	73
E. Rearreglos en 3q y Trombocitopóyesis anormal .....	74
F. Leucemia Monoblástica Aguda con rearreglos estructurales en 11q .....	77
G. Otros rearreglos estructurales primarios en LMA .....	78
H. Leucemia Mieloblástica Aguda como una enfermedad secundaria .....	79
5. MATERIAL Y METODOS.	
5.1 Material Biológico .....	81
5.2 Cariotipo en médula ósea .....	81
5.3 Cariotipo en linfocitos de sangre periférica .....	82
5.4 Bandas G .....	83
A. Técnica .....	84
B. Solución de Tripsina 1% .....	84
C. Solución Amortiguadora de fosfatos .....	84
5.5 Bandas C .....	84
A. Técnica .....	85
6. RESULTADOS .....	86

7. DISCUSION .....	107
7.1 Leucemia Linfoblástica Aguda .....	108
7.2 Leucemia Mieloblástica Aguda .....	110
8. CONCLUSIONES .....	114
9. BIBLIOGRAFIA .....	117

## CAPITULO 1

### INTRODUCCION

El cáncer es una forma de crecimiento celular maligno e incontrolable que ocurre a través de generaciones continuas de células, es por ello que se requiere del conocimiento de los principios citológicos que rigen la división celular. Las investigaciones sobre la naturaleza genética de las células neoplásicas permitieron determinar cuales eran las anomalías cromosómicas y los cambios celulares que causaban la transición de proliferación normal a maligna. Actualmente ha quedado bien establecido que los fenotipos complejos observados en cáncer son el resultado de una multitud de cambios genéticos. Estos se originan por acción de diversos agentes carcinogénicos sobre sitios en el genoma que son potencialmente susceptibles a ellos. La aparición de alteraciones cromosómicas esta condicionada por la acción de estos agentes sobre las células cancerosas, lo que ha dado la pauta para aplicar técnicas citogenéticas en el estudio del cáncer. Con esta metodología se describió la primera anomalía 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 bandeado, en la última década se han descrito alteraciones cromosómicas en la mayoría de las neoplasias humanas. El estudio de las leucemias agudas con esta metodología ha sido particularmente fértil, ya que se ha demostrado que la mayoría presentan rearrreglos cromosómicos específicos. Tal es el caso de la t(8;14) en LAL-L3; las t(1;19), t(4;11) y t(9;22) en LAL-L1 o L2; la t(15;17) en LAM-M3; la inv(16) en LAM-M4 y la t(8;21) en LAM-M2 principalmente. Estos rearrreglos tienen importancia diagnóstica y pronóstica; además, proveen de claves significativas en cuanto a la asociación de sitios específicos del genoma con el mecanismo de la leucemogénesis en particular o de la carcinogénesis en general. Con esto, el panorama de las leucemias agudas se ha ampliado y en la actualidad su estudio debe incluir aspectos morfológicos, inmunológicos y citogenéticos.



En este trabajo se hace una revisión de los parámetros citogenéticos más importantes relacionados con las leucemias agudas. Así mismo, se valora la utilidad de estos estudios en el diagnóstico y evolución de estos padecimientos.

Se presentan los resultados del análisis cromosómico que se realizó a 24 pacientes con leucemia aguda linfoblástica o mieloblástica en el Servicio de Genética del Hospital General de México SSA y se discute su importancia en relación a la confirmación del diagnóstico y por lo tanto a la elección del tratamiento más adecuado, lo que repercute directamente en la sobrevida del paciente. Es propósito de esta tesis contribuir al establecimiento de una mejor caracterización de las leucemias en nuestra población, ya que constituyen un problema importante de morbi-mortalidad.

## CAPITULO 2.

### CLASIFICACION DE LEUCEMIAS AGUDAS

El cáncer es una forma de crecimiento celular maligno e incontrolable. Existen tres tipos: carcinomas, sarcomas y leucemias, que se clasifican principalmente por el órgano en que se han originado y por la clase de células interesadas (1). La leucemia aguda es una enfermedad maligna y progresiva de los tejidos hematopoyéticos que se caracteriza por la presencia de leucocitos linfoides y mieloides, inmaduros y anormales en la sangre y en la médula ósea (2,3).

Probablemente el primero en establecer una clasificación para las leucemias fue Virchow en 1957; quien se basó en la distribución patológica, distinguiendo la forma esplénica de la forma linfática (ganglionar) (4). En los años siguientes, se propusieron numerosos sistemas de clasificación que relacionan el tipo morfológico específico con los hallazgos clínicos bajo métodos reproducibles y nomenclatura común. No fue sino hasta 1976 cuando la clasificación Franco-Americana-Británica (FAB), fué introducida como sistema estandarizado de clasificación morfológica y citoquímica de leucemias (4,5,6).

Según el curso clínico de la enfermedad se distinguieron dos grupos principales de leucemias: agudas y crónicas. Por diferencias morfológicas dentro de las agudas se distinguen dos grandes grupos las linfoblásticas y las mieloblásticas (7). En la tabla 1 se enumeran las características morfológicas, citoquímicas e inmunológicas de las leucemias agudas.

#### 2.1 LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA (LLA).

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es un padecimiento que tiene una proliferación celular anormal asociada al tejido linfóide (ganglios linfáticos, bazo, hígado y médula ósea)(9). Se caracteriza por presentar cantidades anormales de elementos linfoides (linfocitos T, B, células plasmáticas y sus precursores), principalmente en la sangre y en médula ósea (9,10). Figura 1.

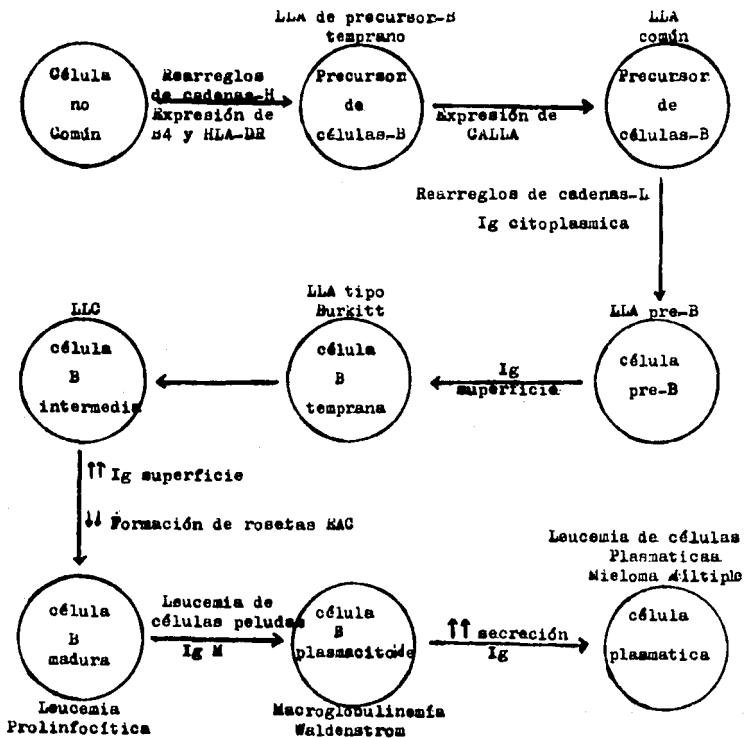
**TABLA I. METODOS PARA CARACTERIZAR CELULAS BLASTICAS UTILES EN LA CLASIFICACION DE LEUCEMIAS AGUDAS (2,4,6,8,43).**

---

<b>Morfologia</b>	Relación núcleo/citoplasma, nucleólos, nucleos, contorno de la membrana nuclear y celular, tamaño de las células, cuerpos de Auer, etc.
<b>Citoquímica</b>	Peroxidasa, sudán negro, tinción de esterases (NASDA y ASD), fosfatasa ácida, ácido per-iódico de Schiff (PAS), lisozima, tinción con esterasa cloronaftol acetato (ASD), tinción con esterasa naftil acetato, (FAB).
<b>Citoquímica Ultraestructural</b>	Peroxidasas y fosfatasa ácida.
<b>Inmunología (marcadores superficie)</b>	Rosetas-E, inmunoglobulinas de membrana, de sueros anti-leucemia linfoblástica (CALLA) aguda de células-T y nulas, receptores de Fc y C, anticuerpos monoclonales.
<b>Bioquímica</b>	Enzimas lisosomales, enzimas implicadas en el metabolismo de nucleótidos y Tdt (desoxinucleotidil transferasa terminal).
<b>Marcadores moleculares</b>	Rearreglos genéticos en el locus de inmunoglobulinas y en el locus del receptor de células-T.
<b>Citogenética</b>	Aberraciones cromosómicas.

---

**Figura 1. Diferentes estadios de la diferenciación de los linfocitos de la línea-B. Se indican las neoplasias que corresponden a cada nivel de maduración (10).**



### 2.1.1 Clasificación del FAB.

El grupo del FAB propuso un sistema de clasificación morfológica de blastos de estirpe linfoide basados en los siguientes parámetros: a) relación núcleo/citoplasma, b) presencia, dimensiones y frecuencia de nucleolos; c) regularidad del contorno de la membrana nuclear y d) tamaño celular (6). Las tres categorías de leucemia linfoblástica se describen a continuación:

Leucemia Prolinfocítica Aguda (L1). En este subtipo las células tienen dos veces el diámetro de los linfocitos pequeños, la cromatina nuclear es homogénea, fina y de distribución normal, la membrana nuclear es regular; los nucleolos son pequeños o están ausentes y el citoplasma es escaso con poca o nula basofilia (4,6,7).

Leucemia Prolinfoblástica Aguda (L2). Las células son grandes y heterogéneas, el tamaño y forma de la membrana nuclear varía de célula a célula. El núcleo es irregular y presenta uno o más nucleolos grandes. El citoplasma es abundante con una gran cantidad de ribosomas (4,6,7).

Leucemia de Burkitt (L3). Presenta células grandes y homogéneas, el núcleo es regular de forma oval a redonda, los nucleolos prominentes, citoplasma moderadamente abundante, con vacuolización extensa y cromatina densa (4,6,7).

### 2.1.2 Clasificación Inmunológica.

La subdivisión del FAB está basada únicamente en criterios morfológicos, más no hay que olvidar que los linfocitos son elementos celulares del sistema inmune y como tales cumplen funciones específicas en la respuesta inmunológica. Se distinguen dos categorías principales: los linfocitos de la línea-B que son responsables de la inmunidad mediada por inmunoglobulinas (Ig) y los linfocitos-T que completan su maduración en el timo y juegan un papel vital en la respuesta inmune celular, ya que reconocen al antígeno extraño y lo presentan a otras células como moléculas de superficie. Este reconocimiento está íntimamente relacionado con la regulación de la respuesta de las células B y la producción de inmunoglobulinas. Por esta razón, es importante establecer el tipo de las células linfoides implicado en el

proceso leucémico. Para ello se usan marcadores de membrana específicos para la línea B o la línea T y enzimas de las células blásticas leucémicas. El estudio se realiza por técnicas de inmunanálisis o con el uso de anticuerpos monoclonales (11,12,13).

Dado el inmunofenotipo de las células, inmunológicamente se detectan 4 tipos de leucemias: leucemias de células pre-B, nulas, T y B (4,11-13). La tabla II presenta las principales características en que se basa esta clasificación. Cada tipo inmunológico de leucemia está estrechamente asociado con sus características clínicas y subclases definidas por el FAB (7). La mayoría de los casos de L1 corresponde al tipo más común de leucemia en niños, no expresa antígenos de células T o B (LLA pre-B), pero expresa el antígeno común de LLA (CALLA); en cambio las L2 (LLA pre-B) CALLA + son más comunes en adultos (4,6,10). Ambas morfologías L1 y L2 son compatibles con diferenciación de células T (LLA-T). La L3 ocurre sólo en aproximadamente 2% de todas las LLA y sólo implica diferenciación de células B (LLA-B), (10).

A nivel molecular el principal cambio que ocurre en la maduración de linfocitos B es el rearrreglo del DNA de la línea germinal en los genes de Ig. Estos loci se localizan en tres cromosomas diferentes: el locus de cadenas pesadas en 14q32; el locus de cadenas ligeras kappa en 2p12 y el locus de cadenas ligeras lambda en 22q11 (14,15). Estos genes que codifican para cada clase de inmunoglobulinas están formados por un número variable de exones separados por regiones no codificantes a lo largo de los cromosomas. Los genes de cadena pesada incluyen los de las regiones variables (V), de diversidad (D), de unión (J) y constantes (C), (11,12,14,15).

El evento primario en la expresión de estos genes es la recombinación somática de los elementos de la línea germinal como primer paso en la diferenciación hacia células-B. Cuando las moléculas son ensambladas se presentan primero en el citoplasma y después de la maduración de las células-B, las moléculas de Ig se expresan en la superficie celular y son detectables por reacciones inmunológicas (14,15).

TABLA II. PARAMETROS EN LOS QUE SE BASA LA CLASIFICACION IMMUNOLOGICA DE LAS LLA (9).

Tipo LLA	Ig Superficie	REC	Anticuerpos anti-T	CALLA	Ag' Ig	TdT
LLA-común	-	-	-	+	+	+
LLA-nula	-	-	-	-	+/-	+
LLA-T	-	+/-	+	-	-	+
LLA-B	+	-	-	-	+	-

REC Rosetas con Eritrocitos de Carnero.  
 CALLA Anti-LLA común.  
 TdT Desoxinucleotidil transferasa terminal.

En neoplasias de células-B hay rearrreglos cromosómicos que afectan estos loci produciendo eventos recombinantes anormales que contribuyen al fenotipo maligno de las células. Principalmente, existen translocaciones que involucran la banda 14q32 donde se localiza el locus de cadenas pesadas de Ig (16-18). Esto se explicará con detalle en el capítulo correspondiente a anomalías cromosómicas en leucemias agudas.

La organización y rearrreglos en los genes para el receptor de células-T (TCR) durante la diferenciación de células-T son análogos a los cambios observados en los genes de Ig de los precursores de células-B. Se han clonado 4 clases de DNA específico para TCR: alfa, beta, gamma y delta (19). Los genes que codifican para las cadenas alfa y delta de TCR han sido mapeados en el cromosoma 14q11-q12; este locus está inespecíficamente implicado en translocaciones e inversiones en neoplasias de células-T humanas (12,20). El locus del gen beta de TCR ha sido asignado a la región 7q32-q36 del cromosoma 7 (20). Recientemente Brito-Babapulle y cols., observaron 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 leucemias de células-T en adultos, sugiriendo que el defecto cromosómico es directamente responsable de la activación del gen TAC (20). Finalmente, en 7p15 se localiza el gen para la cadena gamma de TCR; este sitio es el lugar de ruptura cromosómica en Ataxia-Telangiectasia, un desorden de células-T, (19-21).

### 2.1.3 Clasificación Morfológica, Inmunológica y Citogenética (MIC).

En los últimos años se ha incrementado el interés por los aspectos funcionales de la maduración y diferenciación celular, lo que ha originado una nueva propuesta para los criterios de clasificación que refleje las características patobiológicas de los diferentes subtipos de LLA. Las anomalías citogenéticas se han asociado con varios subgrupos del MIC (22-24). El sistema del MIC define inmunológicamente cuatro subclases mayores de LLA de células-B :

La LLA de células precursoras-B que cubre a los subtipos previos de LLA de células nulas por el tipo de inmunorreactividad y la presencia de rearrreglos en el locus de Ig que indican que las células se dirigen a una diferenciación de células-B. La



morfología corresponde a una maduración B y puede ser L1 o L2, ambas son compatibles con este inmunofenotipo (22-24).

LLA-común. Las células leucémicas que expresan CALLA son consideradas con una maduración adicional de las de LLA-precursoras B. La leucemia es entonces clasificada como LLA-común; que es el subtipo de LLA cuantitativamente más importante en niños. Las morfologías L1 y L2 son compatibles con este inmunofenotipo (22-24).

LLA-preB. Cuando las células expresan Ig (generalmente cadenas pesadas  $\mu$ ) en el citoplasma, la leucemia se denomina LLA-preB. Corresponde a una morfología L1 por los criterios del FAB, (22,23).

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 son invariablemente de morfología L3 por FAB (22-24).

Para las LLA de diferenciación hacia la línea T sólo hay dos categorías en la clasificación del MIC. Esto por la limitación de conocimientos acerca de la proliferación neoplásica y anormal de las células-T. Por medio de una reacción citoquímica y determinación de fosfatasa ácida combinadas con métodos inmunológicos y de genética molecular se puede determinar cuando una leucemia se origina en una célula T. Basados principalmente en la presencia de marcadores específicos de células-T en la membrana de las células y en la formación de rosetas eritrocíticas se distinguen dos categorías de LLA .

La LLA de precursor-T inmaduro [REC(-)] y la LLA-células-T son de células más maduras, positivas para el receptor de REC. Ambos tipos inmunológicos pueden tener morfología de L1 o L2 (22-24).

Sin embargo, la propuesta de clasificación del MIC constituye un ensayo experimental que 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 anomalías cromosómicas que condicionan el proceso leucémico (23,24).

## 2.2 LEUCEMIA MIELOBLASTICA AGUDA (LMA).

La LMA se caracteriza por una excesiva acumulación de precursores mieloides en médula ósea y sangre periférica, que incluyen los cuatro tipos de diferenciación no linfóide: granulocitos maduros (neutrófilos, eosinófilos o basófilos), monocitos, eritrocitos y/o megacariocitos (10). Figura 2.

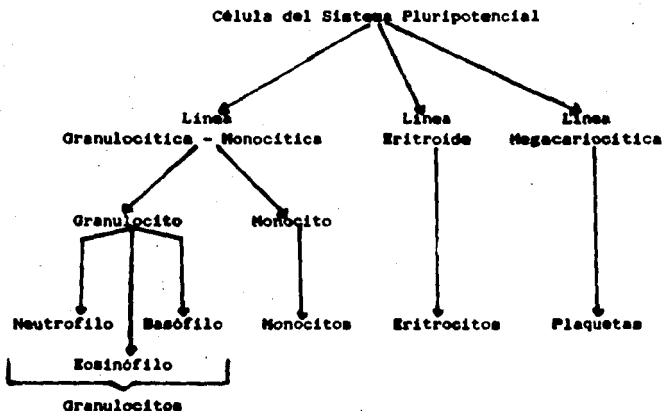


Figura 2. Esquema de la diferenciación no linfóide hacia las líneas granulocítica, monocítica, eritroide y megacariocítica (10).

### 2.2.1 Clasificación del FAB.

El grupo del FAB propuso un criterio de clasificación de LMA basado en criterios morfológicos y citoquímicos. En primer lugar, se evalúa la citomorfología por tinciones convencionales en médula ósea y posteriormente ésta se corrobora con reacciones citoquímicas siendo las más comunes la mieloperoxidasa, el sudán negro y las esterasas (4,6,7). El FAB reconoce 7 subtipos (M1 - M7) dependiendo del tipo y grado de maduración de las células leucémicas (4,6). A continuación se describe cada una de ellas.

**Leucemia Mieloblástica Indiferenciada (M1).** Las células no presentan ningún grado de maduración, los núcleos son regulares redondos u ovales ; se distinguen uno o más nucleolos, el citoplasma es abundante y contiene pequeñas granulaciones (7). Las células blásticas granulocíticas se identifican por la presencia de granulaciones azurófilas y/o cuerpos o bastones de Auer. En algunos casos no hay granulaciones y se identifican por la actividad de mieloperoxidasa o sudán negro positivo en 3% de blastos (5).

**Leucemia promieloblástica o mieloblástica aguda (M2).** Se diferencia de M1 porque estas células exhiben un grado de maduración mayor, hasta el estado de promielocito. Las células tienen núcleos prominentes y grandes granulaciones en el citoplasma, se pueden observar cuerpos de Auer (5,7).

**Leucemia Promielocítica Aguda (M3 o LPA).** Se caracteriza porque la gran mayoría de las células son promielocitos anormales y presentan cambios característicos en la granulación. Hay aumento de los gránulos azurofilicos anormales o numerosos cuerpos de Auer con alteraciones nucleares (4,5,7). Existe una variante hipergranular y otra hipo o microgranular (con granulación sólo visible por microscopía electrónica) de curso más agudo que la hipergranular. Esta última podría confundirse con M2, de la cual puede diferenciarse porque presenta coagulación intravascular diseminada (4,5,7).

Leucemia Mielomonocítica Aguda (M4). Se caracteriza por presentar precursores granulocíticos y monocíticos prácticamente indistinguibles de M1 o M2 por morfología. Sin embargo, las reacciones citoquímicas hacen la diferencia, siendo positivas para esterasas, mieloperoxidasas y sudán negro en más de 20% de blastos (4,5,7).

Leucemia Monoblástica Verdadera (M5). Sus características son similares a las observadas en M4, pero con la presencia de precursores granulocíticos. Existen dos formas de M5: la M5a o leucemia monoblástica en la cual casi todas las células son blastos y no hay diferenciación a monocitos, y la tipo M5b o leucemia monocítica bien diferenciada, en donde una alta proporción de células en sangre periférica han madurado más allá del estado de pronocito. Predominan los componentes granulocíticos esterasa positivos en 20% de las células (4,5,7,).

Eritroleucemia (M6). Es una forma rara de LMA caracterizada por un exceso de eritroblastos, frecuentemente displásicos en médula ósea. El diagnóstico de eritroleucemia es hecho cuando al menos 50% de las células nucleadas de médula ósea son eritroblastos positivos para el ácido per-iódico de Schiff y al menos 30% de las células no eritroides son blastos (22,25).

Leucemia Megacarioblástica Aguda (M7). Presenta células con diámetro de 12 a 120 micras que se identifican como de la línea megacariocítica por la reacción de peroxidasa plaquetaria al microscopio electrónico o con anticuerpos monoclonales específicos de plaquetas en 89% de las células. La mayoría de los pacientes presenta mielofibrosis o aumento de reticulocitos en médula ósea (6,24).

### 2.2.2 Clasificación Inmunológica.

En los últimos años el desarrollo de la inmunología en el área de la obtención de anticuerpos monoclonales dirigidos contra determinantes antigénicos de las células leucémicas, ha permitido aumentar las posibilidades de un diagnóstico más preciso (27-30).

Esta clasificación se basa en la expresividad antigénica de las células blásticas detectada por anticuerpos monoclonales específicos para las diferentes líneas celulares (26,27,28). Estos son CD13,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. Se establecieron ocho categorías fenotípicas cuyo patrón de reactividad se muestra en la tabla III (31-33).

-----  
**TABLA III. CLASIFICACION INMUNOLOGICA DE LMA, PATRON DE REACTIVIDAD FENOTIPICA (26-28).**  
 -----

Fenotipo	CD11/13	CD15	CD14	GLICOF	CDw41/42	HLA-DR	CD9
Indiferenciado	-	-	-	-	-	+/-	+/-
Mieloblástica	+	-	-	-	-	+	+
Promielocítica	+	-	-	-	-	-	+
Mielocítica	+	+	-	-	-	+	+
Mielomonocítica	+	+	+	-	-	+	+
Monocítica	+	-	+	-	-	+	+/-
Eritroide	+	-	-	+	-	+	+/-
Megacariocítica	+	+/-	+/-	+/-	+	+	+

-----

Varios autores han tratado de correlacionar los dos métodos de clasificación -FAB vs Inmunología- y han encontrado que dicha correlación es sólo parcial. Todos los fenotipos inmunológicos, salvo el promielocítico, están integrados por más de un subgrupo FAB, predominantemente uno o dos subgrupos. Tabla IV. (27-33).

TABLA IV. CORRELACION DE LA CLASIFICACION FAB vs INMUNOLOGIA (24-28).

FAB	Indif.	M2	M1	M4	M0	PRO	ER	MK	HIB
M1	+		+						
M2		+	+						
M3						+			
M4		+		+					
M5a	+								
M5b					+	+			
M6							+		
M7								+	
Inclasif.	+							+	+

Inclasif= inclasificable de acuerdo a criterios del FAB.

Indif= fenotipo indiferenciado.

M2 = fenotipo mieloblástico.

M1 = fenotipo mielocítico.

M4 = fenotipo mielomonocítico.

M0 = fenotipo promielocítico.

ER = fenotipo eritroide.

MK = fenotipo megacarioblástico.

HIB= fenotipo híbrido.

La importancia de esta correlación reside en que un gran número de casos de LMA morfológicamente inclasificables ha podido ser admitido en uno u otro grupo de esta clasificación. También es importante señalar que existen poblaciones blásticas híbridas, que por métodos morfológicos pueden pasar desapercibidas y por estas técnicas son fácilmente detectables, siendo segregadas del resto de las LMA. Estas poblaciones híbridas o bifenotípicas en leucemias agudas tienen células linfoides y mieloides afectadas, porque la alteración o daño ocurrió en una célula del sistema multipotencial que da origen a la expresión de ambas líneas celulares (34,35).

En conclusión, estos criterios de clasificación inmunológica son complementarios a los clásicos morfológicos y citoquímicos, por lo que es necesario hacer una revisión de estos parámetros para crear una nueva clasificación (26).

### 2.2.3 Clasificación del MIC.

El segundo grupo de estudio cooperativo del MIC, realizado en septiembre de 1986, revisó la información morfológica, inmunológica y citogenética de leucemias mieloides agudas y desórdenes relacionados sugiriendo nuevos subtipos morfológicos de leucemias con anomalías cromosómicas específicas. La clasificación que propone se basa en tres parámetros principales: a) Caracterización inmunocitoquímica de leucemias; b) Información citogenética y c) Clasificación del FAB. Así se establecieron 10 subtipos de LMA que a continuación se describen (10,24,36).

M2/t(8;21). La médula ósea contiene blastos grandes con granulaciones anormales y un alto porcentaje de cuerpos de Auer. Se observa cierto grado de maduración granulocítica. Las translocaciones variantes o complejas se presentan sólo en 4% de los casos, pero los cambios cromosómicos adicionales a la translocación (8;21) están presentes en 80% de los casos y la gran mayoría consiste en pérdida de cromosomas sexuales y delección intersticial del cromosoma 9 (24,36).

M3 o M3v/t(15;17). Esta translocación es específica para ambas formas de M3. Sólo un tercio de los pacientes presenta trisomía 8 como cambio cromosómico adicional (24,36).

M5a/t(11q;V). Las translocaciones que implican 11q son características del grupo de LMA con predominio de los componentes monocíticos; aproximadamente 50% de los casos tienen una morfología M5a. Se observa con mayor frecuencia en niños y a menudo como leucemia congénita (24,26,36).

M4EO/inv (16). Este subtipo presenta cambios estructurales en el cromosoma 16 que pueden ser inversiones (lo más frecuente); deleciones y translocaciones; con trisomía 8 como cambio cromosómico adicional. En la médula ósea aparecen eosinófilos anormales esterase positivos con granulaciones PAS (+). Estos pacientes tienen una remisión completa en breve tiempo con la quimioterapia convencional para LMA (24,26,36).

M1/t(9;22). El cromosoma Filadelfia (Ph') es un evento relativamente raro en LMA y aparece predominantemente en M1. Los casos de LMA Ph (+) tienen un gran número de células cromosómicamente normales y el cromosoma Ph' desaparece durante la remisión. La presencia de translocaciones variantes es rara en este subtipo (23).

M2/t(6;9). Esta translocación se presenta tanto en M2 como en M4, pero cuando cursa con basofilia de médula ósea es exclusiva de M2 (24,26,36).

M1/inv(3). Pacientes con esta anomalía cromosómica tienen una relativa o absoluta trombocitosis asociada sólo a M1 (24,36).

Los tres subtipos siguientes son raros y su descripción es relativamente nueva, por lo que su definición debe confirmarse en base al análisis de más casos.

M5b/t(8;16). Esta forma de LMA se reconoce porque las células leucémicas presentan una eritrofagocitosis significativa que se asocia en forma específica con la anomalía citogenética (24,36).

M2 con Basofilia/t(12p;V). La mayoría de los casos presenta blastos granulares y las células muestran evidencia de maduración hacia basófilos. Las células blásticas contienen gránulos basofílicos que son indistinguibles al microscopio ordinario;



sólo se observan por técnicas de microscopía electrónica (ME). Un pequeño porcentaje de blastos contiene actividad de peroxidasa. La naturaleza mielóide de los blastos es confirmada con el uso de anticuerpos monoclonales (24,36).

M4/+4. La trisomía 4 está asociada específicamente a la morfología de M4 (24,36).

Esta nueva propuesta de clasificación de LMA muestra la importancia de los hallazgos citogenéticos en este tipo de neoplasias y su relación con el mecanismo patogenético y clínico de la enfermedad.

## CAPITULO 3.

### ETIOLOGIA DE LAS LEUCEMIAS AGUDAS

Aunque las causas de la leucemia humana se desconocen, cada vez es más evidente que no se trata de un factor causal único. Actualmente, se considera a las leucemias como un grupo heterogéneo de desórdenes, producto de diferentes factores de riesgo. Estos factores son genéticos y ambientales (físicos, químicos y biológicos) que por sí solos no producen leucemia sino que incrementan la susceptibilidad del individuo a desarrollar la neoplasia (1,15,37).

#### 3.1 Factores Genéticos.

Durante los últimos años, se ha incrementado la idea de que si bien las causas del cáncer pueden ser amplias y diversas, todas actúan sobre un sustrato común dentro de las células. Existen varias hipótesis que tratan de explicar el fenómeno leucémico sobre bases genéticas. Una de ellas supone que el cáncer se puede deber a la acumulación de mutaciones somáticas en sitios susceptibles, causando una pérdida del control del crecimiento celular (15,42). La hipótesis de Knudson o de iniciación-promoción propone que en el caso de tumores hereditarios debe ocurrir una primera mutación en células germinales (primer evento de la carcinogénesis), seguida de una mutación en células somáticas (segundo evento) (38-41). 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 las leucemias, no se excluyen mutuamente y es posible que estos procesos desempeñen un importante papel en la etiología de las leucemias, como se explicará más adelante (15,42).

##### 3.1.1 Origen Monoclonal de la Leucemia.

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 (15,43).

Para demostrar el origen clonal de las leucemias y otros tipos de cáncer se han usado 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 locus para esta enzima se localiza en el cromosoma X, el cual está en forma doble -XX- en la mujer, uno de ellos se inactiva al azar en cada célula y toda su progenie retiene la inactivación del mismo cromosoma. Por lo tanto al analizar tejidos no hematopoyéticos de pacientes heterocigotas 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 (15,43,44).

### 3.1.2 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 para ambos tipos de leucemia aguda: linfocítica y mielocítica (37). El desarrollo de varios subtipos de leucemia 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 (37,45).

En las familias con varios casos de leucemia, 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 transformación vírica, similares a las observadas en 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 un plazo menor 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 (41). Por otra parte los

gemelos monocigóticos comparten el mismo ambiente fetal, de tal manera que si ocurre una transformación leucémica en útero, por el intercambio de células sanguíneas se establece una clona maligna en cada gemelo (46,47). En gemelos no idénticos el riesgo desciende y es 5 veces mayor que el de la población general. Sin embargo, es evidente que en tales casos pueden participar factores no hereditarios como, por ejemplo infecciones intrauterinas, radiación o exposición farmacológica (1,37).

#### A. Aneuploidias que Predisponen al desarrollo de Leucemia.

La observación de que las células malignas presentan con frecuencia un número cromosómico anormal (aneuploidias) sugirió que estas aberraciones predisponían al desarrollo de neoplasias. Aún no se ha definido si la aneuploidia representa un evento primario o secundario para la transformación maligna; sin embargo, resulta interesante que individuos con condiciones aneuploides constitutivas desarrollen neoplasias con mayor frecuencia que la población general (48).

El primer caso de leucemia aguda en un niño con Síndrome de Down fue reportado por Brewster en 1930 (49,51). En la actualidad se sabe que en los pacientes con Sx. de Down el riesgo de desarrollar leucemia aguda se incrementa 10 a 20 veces comparado con el de niños normales de la misma edad. En estos pacientes se ha sugerido como consecuencia de la aneuploidia un defecto en el sistema inmunológico, por lo que los leucocitos son incapaces de responder antígenoicamente a las células leucémicas (46,51). Por otra parte se ha informado la presencia de una sustancia hormonal que al estimular a la médula ósea coadyuva a la génesis de la leucemia en pacientes con trisomía 21, pero aún no se conoce con certeza su sitio de producción ni su mecanismo de acción (50,51).

Otras anomalías cromosómicas asociadas a leucemia son las alteraciones numéricas que involucran los cromosomas sexuales, XYY, XXY y Sx. Turner (52,54). Los Síndromes de Inestabilidad Cromosómica como Anemia de Fanconi, Sx. de Bloom y Ataxia Telangiectasia, con patrón de herencia autosómico recesivo, se caracterizan por un incremento de rupturas cromosómicas que aumentan el riesgo de desarrollar leucemia aguda. En éstos casos la leucemia puede ser el resultado de una interacción entre aberraciones cromosómicas y exposiciones medioambientales (37).

### 3.1.3 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 RNA (55). 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 en virtualmente todas las especies en las que se han investigado, desde Neurospora y Drosophila hasta el hombre. Cada oncogén se denomina con tres letras que definen al virus del cual fue aislado (55-57).

Proto-oncogenes es el nombre que recibe la contraparte celular normal o la forma inactiva de un oncogén. Estos proto-oncogenes están altamente conservados evolutivamente lo que indica que su función tiene que ser de importancia vital para la economía celular en condiciones normales (58).

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 abarca los experimentos de transducción por retrovirus, de los cuales se obtienen dos evidencias: 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 (43,57,59).

La segunda área de investigación incluye los mecanismos de mutagénesis por inserción que refiere el potencial mutagénico ocasionado por la integración del DNA viral dentro del genoma del huésped. Esto puede ser ocasionado por dos mecanismos: 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 (43,57,59).

Los ensayos de transfección de DNA constituyen la tercer área de investigación e identificación de genes transformantes en virus tumorales de RNA o DNA. Este proceso se realiza en células de mamíferos y es el equivalente a la transformación en bacterias. En este ensayo genes transformantes (DNA genómico) obtenidos de

tumores humanos o líneas de células tumorales es transferido a células receptoras bien caracterizadas. Este "transfer" contiene oncogenes humanos activados que ocasionan en la célula huésped alteraciones morfológicas con propiedades tumorales como resultado de la incorporación del DNA (15,58,60-62). Esta metodología permitió identificar a varios miembros de la familia ras. Actualmente un sinúmero de genes transformantes se han estudiado, entre ellos se incluyen los oncogenes neu (63), met (64), trk (65), src (66), erbB-2 (67), hst (67), y k53 (68).

La identificación de oncogenes potenciales en rearrreglos cromosómicos específicos de neoplasias se ha convertido en otra de las áreas de investigación. Por medio de hibridización in situ ha sido posible caracterizar los oncogenes implicados en el desarrollo de linfoma de Burkitt (c-myc); LGC (bcl-c-abl), linfomas de células B adultas (bcl-1) y linfoma folicular (bcl-2) entre otros. Tabla V. (43,56,58,69).

#### 3.1.4 Mecanismos de Activación de Proto-oncogenes.

Los proto-oncogenes constituyen un grupo heterogéneo de secuencias de ácidos nucleicos, que se pueden expresar en todas las células normales sin causar neoplasias. Para que un proto-oncogén cause transformación maligna necesita ser activado. Esta activación incluye cambios cualitativos que dañan un gen celular ocasionando alteraciones funcionales, tal es el caso de las mutaciones puntuales y los rearrreglos cromosómicos (57-59). 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 (57-59,69).

Por inserción retroviral hay afección también a nivel de transcripción aumentando la cantidad del producto génico. Esto ocurre por el mecanismo de acción de secuencias amplificadoras virales "enhancer" (potenciador) que incrementan la utilización de promotores de transcripción. Este mecanismo se observa en la eritroleucemia en donde por inserción retroviral se activa el c-erbB produciendo un receptor modificado para el factor de crecimiento epidermal (EGFR). Esta activación por inserción proviral produce eritroblastos con un receptor modificado responsable de la patogénesis de la enfermedad (56,58,69,70).

-----  
**TABLA V. LOCALIZACION CROMOSOMICA DE ONCOGENES (15,58).**  
 -----

Cromosoma	Localización	Proto-oncogén
1	1p36	<b>fgr</b>
1	1p32	<b>L-myc</b>
1	1p11-13	<b>N-ras</b>
1	1q22-qter	<b>ski</b>
1	1q32	<b>trk</b>
2	2p23-24	<b>N-myc</b>
2	2p11-12	<b>rel</b>
3	3p25	<b>raf</b>
5	5q34	<b>fas</b>
6	6p21	<b>pin-1</b>
6	6q21-22	<b>ros</b>
6	6q22-24	<b>myb</b>
6	6q24-27	<b>mas</b>
7	7p11-13	<b>erb-B</b>
7	7q31	<b>met</b>
8	8q22	<b>mos</b>
8	8q24	<b>myc</b>
9	9q34.1	<b>abl</b>
11	11p14.1	<b>H-ras</b>
11	11q13	<b>int-2</b>
11	11q23-24	<b>ets-1</b>
12	12p12.1	<b>K-ras</b>
12	12pter-q14	<b>int-1</b>
14	14q21-31	<b>fos</b>
15	15q26.1	<b>fas</b>
17	17p23	<b>p53</b>
17	17q12-22	<b>neu</b>
17	17q21-22	<b>erb-A</b>
18	18q21.3	<b>yes</b>
20	20q12-13	<b>src</b>
21	21q22	<b>ets-2</b>
22	22q11	<b>bcr</b>
22	22q13.1	<b>sis</b>

-----

La amplificación génica se refiere a que en una neoplasia puede haber copias múltiples de un oncogén celular que se manifiestan como 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 técnicas de hibridización (15,58). El gen *c-myc* fue el primer proto-oncogén en que se observó amplificación. En una línea celular de leucemia promielocítica se detectaron de 8 a 30 copias de *c-myc* por célula. En otros oncogenes incluyendo *c-myb*, *c-erb*, *c-msu*, *c-myc* y la familia *c-ras* se ha visto amplificación en ciertas neoplasias (15,57,58,69,71).

La presencia de múltiples copias de oncogenes en células neoplásicas ha sido asociada con buen pronóstico. Estudios hechos en la familia de genes *myc* demuestran que la amplificación de proto-oncogenes es frecuentemente tumor-específica. Esto sugiere que la amplificación génica es importante en el desarrollo y progresión de las neoplasias (58,72).

Las mutaciones puntuales provocan cambios de bases lo que origina una sustitución de un aminoácido por otro en la proteína producida. El gen *c-Hras* estudiado en líneas celulares de carcinomas presenta una mutación 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 (58,69).

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 (56,58,73,74). En el linfoma de Burkitt se han reportado tres rearrreglos cromosómicos, la t(8;14) es la más común y sus variantes las t(2;8) y t(8;22). En todos esos rearrreglos la ruptura en el cromosoma 8 ocurre en 8q24 donde se localiza el gen *c-myc*, homólogo del gen transformante del virus de mielocitoma aviario. En estos rearrreglos el *c-myc* se transloca a los loci de cadenas pesadas (cromosoma 14) o ligeras (kappa cromosoma 2 y lambda cromosoma 22) de Ig (56,58,73,74).

En algunos linfomas de Burkitt con t(8;14) la ruptura en el gen de Ig está próxima a la región "potenciadora", lo que incrementa la expresión de *c-myc*. Cambios similares deben de ocurrir en los otros genes de inmunoglobulinas produciendo la transformación de una célula B normal en una célula neoplásica (56,73).

Un mecanismo similar ocurre en las LGC con t(9;22), que



transfiere al oncogén Abelson (c-abl), localizado normalmente en 9q34 y que es translocado al cromosoma 22 a un segmento de DNA restringido denominado región bcr. La translocación altera la estructura del gen c-abl originando la expresión de una proteína quimérica c-abl/bcr que tiene una actividad incrementada de tirosina-cinasa, lo que le confiere el potencial maligno a las células (56,58,74,75).

En la leucemia mielomonocítica (M4) con eosinofilia e inversión del cromosoma 16 el punto de ruptura (q22.1), comprende el locus para la metalotionina (MT). Este locus se divide durante el rearrreglo, de tal manera que algunos de los genes para la MT pasan al brazo corto del 16 en p13. Uno de estos genes es, MT-HA, está estrechamente ligado a un promotor y podría funcionar como una secuencia reguladora para un oncogén aun no identificado en el segundo punto de ruptura (16p13) (56,76).

La leucemia promielocítica aguda (LPA o M3), presenta en forma clásica una t(15;17) en la que se hay implicados varios oncogenes c-erbA1, c-erbB2 y c-neu cuya activación probablemente ocurre por yuxtaposición al producirse la translocación. Además 30% de las LPA exhiben trisomía 8 asociada a la t(15;17), lo que origina que en estos casos se active el c-myc, cuyo producto proteico tiene localización nuclear e interactúa con oncogenes de la familia c-ras (56-59,69,73-75). En la línea celular HL-60, muestra una amplificación de 15-30 veces lo que no ocurre en las células normales. Estos niveles disminuyen notablemente en esta línea celular cuando se induce diferenciación granulocítica o monocítica (77).

Ninguno de estos mecanismos ha sido establecido como fundamental, habiéndose aceptado que para engendrar un tumor maligno deben ocurrir dos o más eventos. Para ello se han sugerido varios mecanismos: a) la activación de al menos un oncogén; 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 oncogén (57-59,69).

Cualquiera que sea el mecanismo específico que convierte un proto-oncogén en oncogén, éste ejerce su efecto a través de la proteína que determina. Esas proteínas se clasifican de acuerdo a su mecanismo de acción en cuatro grupos: (43,55,58,69,78,79)

- i) con actividad asociada a tirosina-cinasa (los productos de c-src, c-abl, c-yes, c-fgr, c-fes, c-fms, c-erb, c-neu, c-ros);
- ii) con propiedades de enlace a GTP (la familia c-ras);
- iii) con homología a los factores de crecimiento o a sus receptores (c-sis, c-erbB) y
- iv) con localización nuclear (c-myc, c-myb, c-fos, c-ski, P53).

### 3.1.5 Sitios Frágiles.

Actualmente ya está bien establecido que los tumores humanos, particularmente leucemias y linfomas se caracterizan por presentar anormalidades cromosómicas específicas. Estas implican puntos de ruptura donde se localizan proto-oncogenes y genes muy activos para la diferenciación celular. Los cuales están ubicados en o cerca de sitios hipersensibles o sitios frágiles, donde pueden actuar agentes carcinógenos y ocasionar rupturas y rearreglos cromosómicos. Algunos de estos rearreglos cromosómicos pueden proveer a la célula de una ventaja proliferativa. Otros pueden repetirse preferencialmente y caracterizar una enfermedad determinada (76,80).

El estudio y clasificación de los sitios frágiles ha sido posible gracias al descubrimiento de que su fragilidad puede ser expresada sólo bajo condiciones de cultivo altamente específicas y en algunos casos sólo en ciertos tejidos (76,80). Se observó que los factores esenciales son la deficiencia de ácido fólico y timidina en el medio de cultivo o la inhibición de la enzima timidilato sintetasa por compuestos específicos como la fluorodesoxiuridina (FdU), fluorodesoxicitidina (FdC) y la trifluorotimidina. La adición de otros compuestos al medio de cultivo puede amplificar la expresión de sitios frágiles específicos, dando una clave para establecer su clasificación. La nomenclatura citogenética para designar los sitios frágiles es colocando el triplete "fra" seguido del número, el brazo y la banda del cromosoma, ejemplo fra(17)(p12) (76,80,84,87).

La clasificación principal de los sitios frágiles los agrupa en dos grupos principales: los sitios frágiles hereditarios o raros y los sitios frágiles comunes o constitutivos; además algunos autores manejan otro grupo que incluye los sitios frágiles controversiales o inclasificables (80,81).

#### A. Sitios Frágiles Raros.

Los sitios frágiles cromosómicos raros o heredables (h-fra) presentan las siguientes características: a) se observan en el cromosoma como una ruptura o abertura (gap) no teñida, de amplitud variable, generalmente en ambas cromátidas; b) el gap implica el mismo locus en un paciente y sus familiares y son heredados en forma Mendeliana codominante; c) la fragilidad se expresa por la producción de fragmentos acéntricos, cromosomas deletados o figuras trirradiales (80,83).

Se han identificado 24 sitios frágiles heredables en el genoma humano: 23 localizados en los autosomas y uno en el cromosoma X. Los h-fra autosómicos no están asociados con anomalías fenotípicas, pero el h-fra del cromosoma X es un marcador que está asociado a una forma de retraso mental ligado al X (84,85).

Los h-fra se agrupan en tres clases en base a las condiciones de cultivo necesarias para su expresión. El primer grupo comprende sitios frágiles folato - sensibles que se expresan en cultivos con deficiencia de timina. Estas condiciones se adquieren por inducción con antifolatos del tipo metrotexato o anopterina o por inhibición específica de la enzima timidina sintetasa con FdU o FdC (80). El segundo grupo comprende los h-fra inducibles con distamicina-A que incluyen el fra(16)(q22) y el fra(17)(p12). Estos h-fra pueden expresarse espontáneamente, sin embargo su expresión es amplificada por la presencia de distamicina-A, interferón o BUdr en el medio de cultivo. El tercer grupo son sitios frágiles que requieren BUdr como el fra(10)(q25) que se expresa sólo si el medio de cultivo contiene BUdr; este h-fra no es inducido por otros compuestos del grupo 2 (80).

#### B. Sitios Frágiles Comunes o Constitutivos.

Estos c-fra en el hombre parecen ocurrir en muy alta frecuencia; son inducidos por niveles bajos de folato en el medio; pero su expresión se amplifica por la adición de afidicolina (un inhibidor de la alfa-polimerasa) y cafeína (un agente clastogénico), durante las últimas 6 horas de cultivo (76). Actualmente, se han encontrado 86 sitios frágiles constitutivos localizados en cromosomas homólogos en puntos precisos del genoma humano y de primates (76,78,80,85,86).

La mayoría de los c-fra parecen estar localizados en la unión de las bandas Giemsa positivas y Giemsa negativas o cerca de 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 están localizados en las bandas Giemsa negativas, y que las bandas Giemsa positivas son ricas en secuencias adenina-timina (A-T), es posible que la mayoría de los sitios frágiles representen una clase de secuencias ricas en timina, evolutivamente conservadas, que son particularmente sensibles a la carencia de timina (76).

Se ha encontrado que los carcinógenos como la radiación gamma y varios tipos de mutágenos químicos, tales como el busulfán y la citarabina rompen los cromosomas en sitios frágiles. Además, 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 observado algunos defectos estructurales específicos, encontrados en cáncer. De esta manera, parece que la vía metabólica para la síntesis de pirimidinas representa un punto de convergencia donde ciertos carcinógenos, oncogenes y algunos factores de la dieta pueden interactuar (76,83).

El mecanismo preciso de formación de los sitios frágiles es desconocido. Sin embargo, se ha sugerido que el origen de los sitios frágiles esté a nivel de síntesis de DNA. Estos pueden producirse por no acoplarse las regiones ricas en timina y, por lo tanto, no hay compactación 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 DNA 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 apirimídicos que son sitios de acción de las endonucleasas responsables del proceso de reparación por excisión, produciendo así el sitio frágil. Otra hipótesis propone que los sitios frágiles se forman por modificación viral del DNA, que afecta la condensación cromosómica (80).

### C. Sitios Frágiles y Rearreglos Cromosómicos en Leucemias Agudas.

Se han publicado numerosos reportes que tratan de explicar el papel de los sitios frágiles en la patogénesis de los tumores humanos. Algunos de esos estudios sugieren que estos sitios incrementan la susceptibilidad a las rupturas y pueden servir como un factor predisponente a los rearrreglos cromosómicos en neoplasias (76). Se ha encontrado una correlación entre los puntos de ruptura en varios rearrreglos cromosómicos en cáncer y la localización de sitios frágiles comunes o heredables. Hetch y Sutherland (1984) encontraron una asociación significativa entre 21 sitios frágiles raros y 50 puntos de ruptura específicos en cáncer; Yunis y col., (1987) encontraron que 67% de los 86 sitios frágiles constitutivos coinciden con puntos de ruptura específicos en cáncer y que 72% coinciden con la localización de oncogenes (76,82,85-87).

La tabla VI muestra las aberraciones cromosómicas en leucemias agudas que implican sitios frágiles; entre ellos se tiene en la banda p23 del cromosoma 6 un sitio frágil que es el punto de ruptura en la translocación (6;11) observada en LMOA y deleciones o translocaciones en LLA. El cromosoma 10 contiene 2 sitios frágiles (10q23 y 10q25), pero sólo uno está asociado a t(10;14) (q24-25;q11) en LLA de células T. Hay dos sitios frágiles en el cromosoma 11 (q13 y q23) cada uno asociado a puntos de ruptura específicos en varias translocaciones o deleciones en LMA y LLA. En 16q22 hay un sitio frágil que se ve implicado en la inv(16); del(6q) y t(16;16) encontradas en LMA-M4 que se caracteriza por presentar eosinofilia en médula ósea (76,80,83-85).

Con estos primeros 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. También puede representar sitios donde el DNA sería fácilmente desenrollado para efectuar una rápida transcripción y sería también susceptible de agresión por varios agentes carcinógenos. Debido a esto, los sitios frágiles posiblemente tienen una función directa en la desregulación de un proto-oncogén, como en las translocaciones e inversiones específicas en cánceres humanos. Alternativamente pueden servir como sitios de ruptura para deleciones o recombinaciones somáticas (76).

TABLA VI. RELACION ENTRE SITIOS FRAGILES Y REARREGLOS CROMOSOMICOS EN LEUCEMIAS AGUDAS (80-87).

Cromosoma	Sitio Frágil	Rearreglo	Enfermedad
1	p32	t(1;11)(p32;q23)	LLA-L1 pre-B
	p36	t(1;3)(p36;q21)	LMA
	q21.3	t(1;19)(q23;p13.3)	LLA-L1 pre-B
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 y M4
	q26	del(6)(q26) t(6;11)(q27;q23)	LLA LMA-M5
7	p11	t(1;7)(p11;p11)	LMA#
	q22 y q32	del(7)(q22-q36)	LMA#
8	q22	t(8;21)(q22;q22)	LMA-M2
	q24	t(8;14)(q24;q32) t(8;22)(q24;q11)	LLA-L3 LLA-L3
9	p21	t/del(9p)	LLA
	q32	t(9;11)(p21-22;q23)	LMA-M5a
	q34	del(9)(q11-q32) t(9;22)(q34;q11)	LMA LLA y 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
	q23	t/del(11)(q13-q14)	LMA-M4 y M5
		t(4;11)(q21;q23)	LLA
		t(11;14)(q23;q32) t(11;17)(q23;q25) t(11;19)(q23;p13)	LLA LMA LMA
12	p11-p13	t/del(12)(p11-13)	LMA#
	p12	t/del(12)(p12)	LLA
16	p13	t(8;16)(p11;p13)	LMA-M5
	q22	inv(16)(p13q22) t(16;16)(p13;q22) del(16)(q22)	LMA-M4 LMA-M4 LMA-M4
	q21	t(15;17)(q22;q21-22)	LMA-M3 y M3v

En el caso de una translocación o inversión, un sitio frágil puede ser parte o estar próximo a un proto-oncogén y el segundo sitio frágil 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 DNA, que incluye una secuencia crítica (76).

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 explicar porqué algunos individuos y familias tienen una mayor incidencia de neoplasias. A este respecto los datos son controversiales (76).

### 3.2 Factores Biológicos.

Los factores biológicos entran dentro del grupo de agentes medioambientales responsables de algunos tipos de cáncer y comprenden agentes infecciosos como virus, bacterias, hongos y parásitos. De éstos los que muestran una evidencia mayor de riesgo en neoplasias de vertebrados son los primeros (43).

#### 3.2.1 Virus.

Los virus son estructuras complejas con paquetes de información genética, encapsulados en una cubierta protéica. La información puede estar contenida en RNA o DNA (88). Los estudios de los virus y su relación con las neoplasias comenzaron a principios del siglo XIX con los experimentos de Ellerman y Bang (1908); quienes demostraron que la leucosis aviaria era transmitida por partículas submicroscópicas filtrables. Poco tiempo después (1910) Rous describe el virus que induce sarcomas en aves. Pero la evidencia inequívoca de que una variedad de leucemias animales estaban íntima y etiológicamente relacionadas con los virus la aportan Gross, Friend y otros en 1951 al descubrir el primer virus que causa leucemia en el ratón. A partir de aquí, se

reportaron otros virus asociados a leucemias en animales como el virus de la leucemia felina y el virus de la leucemia bovina; y no fue sino hasta veinticinco años después (1978) cuando se estudia el primer retrovirus humano asociado al desarrollo de neoplasias (43,88-90).

De todos estos descubrimientos sólo dos son de particular importancia en el origen viral del cáncer humano. Uno fue el descubrimiento de que ciertos virus de DNA, particularmente los 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 (15).

Los virus de DNA no se encuentran asociados al desarrollo de leucemias agudas, más sin embargo si se asocian con otro tipo de neoplasias como el virus de la hepatitis B que ocasiona a largo plazo hepatomas o cáncer de hígado; el virus de Epstein-Barr relacionado con linfoma de Burkitt, carcinomas y mononucleosis; y SV40 asociado a sarcomas, entre otros (15,43,55,91-93).

De los virus de RNA, sólo los Retroviridae están asociados como posibles agentes causales en leucemias, linfomas, sarcomas y ocasionalmente carcinomas en animales. Los retrovirus se distinguen de otros virus animales porque son los únicos cuyo genoma asume ambas formas químicas posibles RNA y DNA; ya que la síntesis de DNA es dirigida por RNA mediante la enzima viral transcriptasa reversa. Los genes de los retrovirus se incorporan al genoma del huésped y allí sobreviven unidos al material genético de la célula huésped y pueden ser transmitidos de una generación a otra y así conservarse evolutivamente (15,88,89,94).

La utilidad de los retrovirus en el análisis del desarrollo tumoral se debe a tres parámetros principales. En primer lugar, se han encontrado en un número elevado de especies de vertebrados, donde inducen muchos tipos de tumores y constituyen modelos experimentales para muchas de las formas más extendidas de cáncer humano. En segundo lugar, resulta relativamente fácil identificar y aislar oncogenes de retrovirus y descubrir sus productos. En tercer lugar, los oncogenes de retrovirus no



aparecen como componentes propios del genoma vírico, sino más bien parecen copiados de los genes de los huéspedes vertebrados en los que el virus se replica (88).

El genoma de los retrovirus es diploide con dos moléculas idénticas de RNA de una sola hélice, unidas por enlaces de hidrógeno 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 "env" que codifica para las glicoproteínas de la envoltura membranosa que rodea la partícula viral. Además, en cada extremo de la molécula existe un pequeño segmento de RNA repetitivo y secuencias únicas no codificantes (U5 y U3) que contienen elementos reguladores "potenciadores" (secuencias promotoras y exaltadoras para transcripción viral) (26,75,77,78).

Algunos retrovirus pueden contener solamente esos genes y son virus de leucemia crónica (virus no defectivos), o sea, no transforman células *in vitro* y requieren periodos largos de latencia (virus de leucosis aviaria, virus de leucemia felina, virus de leucemia bovina y virus de leucemia del mono gibón) y su acción puede ser por inserción de promotores que llevan a la activación de oncogenes celulares (76,88,89,95,96).

Otros retrovirus, denominados transformantes agudos, contienen un determinante genético adicional conocido como "gen transformante", "oncogén" o "secuencia transformante", que codifica para una porción o la totalidad de una proteína requerida para la iniciación y mantenimiento del fenotipo neoplásico de la célula huésped. Aunque no son necesarios para la replicación viral, la adquisición del oncogén generalmente está asociada con la pérdida de porciones de algunos genes, conduciendo a un defecto en la replicación del virus. Los retrovirus que llevan un oncogén son transformadores agudos que pueden inducir rápidamente tumores en animales y transformar células en cultivo. Los virus de esta clase incluyen todos los virus de sarcoma aislados y todos los virus de leucemia aguda (88,89,95,96).

Después de la infección por retrovirus en las células huéspedes, el genoma de RNA es transcrito por la transcriptasa inversa a una molécula de DNA lineal de doble cadena, en cuyos extremos quedan estructuras conocidas como "repeticiones terminales largas" (LTR). Aunque no codifican para proteínas, son importantes para la integración de los provirus en el DNA cromosómico, tal vez al favorecer la formación de intermediarios circulares, mecanismo mediante el cual se cree que ocurre la integración. El DNA viral puede integrarse al azar en numerosos sitios del genoma huésped, pero no cambia de una posición a otra y rara vez es excindido, excepto por delección de parte o todo el cromosoma sobre el que reside. Además, la integración es por recombinación no homóloga. Probablemente serían mutagénicas si se integraran adyacentes a algún gen estructural o en general en algún sitio del genoma transcripcionalmente activo. (43,91).

El genoma viral se integra a la célula huésped como un "provirus" estable y somete su expresión al control de los mecanismos celulares (43,88,91,95). La transcripción del provirus retroviral produce una molécula de RNA que contiene el genoma viral completo (2).

Hasta el momento existen muchos reportes en los que se asocian virus tipo C (retrovirus) y leucemia humana. Tal es el caso de la familia de virus de leucemia/linfoma de células T humanas (HTLV) que abarca tres grupos. El HTLV-I que es el agente etiológico de la leucemia de células-T adultas (LAT), enfermedad maligna que se caracteriza por la proliferación de células T anormales. HTLV-II aislado de pacientes con leucemia de células peludas-T, una variante de las células T y que comparte las mismas propiedades biológicas de HTLV-I in vitro. El tercer grupo, el HTLV-III, es considerado como el agente causal del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) caracterizado por deficiencia e inmunosupresión de células T (15,89,90,96).

Inicialmente, HTLV-I fue aislado de nódulos linfáticos de un paciente con una variante de linfoma cutáneo de células T (Sx. de Sézary) y posteriormente fue estudiado y/o identificado en pacientes japoneses con leucemia/linfoma de células-T de adultos (LLAT o LAT). Actualmente, se sabe que las zonas endémicas para estos virus son las islas del Caribe, Centro y Sudamérica, África

y regiones del suroeste del Japón (89,90,96).

Estos virus pueden transformar células-T normales in vitro. lo que sugiere que el virus codifica para un gen transformante. El cual está codificado en el extremo 3' del genoma viral y es llamado P<sub>x</sub> o Ior. Codifica para una proteína que funciona como un factor trans-activante que incrementa la transcripción viral. El producto del gen P<sub>x</sub> sólo activa la transcripción de genes celulares específicos que estimulan únicamente células-T (15,90).

A pesar de las evidencias sobre la asociación retrovirus-leucemia, los virus se consideran como uno más de los factores causales de leucemia, por mecanismos moleculares. También podría ser una vía final común de muchos procesos de leucemogénesis, iniciados primitivamente por otros agentes (95).

### 3.3 Factores Físicos.

Entre los factores físicos considerados en la etiología de las leucemias están las radiaciones ionizantes (rayos X, gamma, electrones, protones y partículas alfa) y las no ionizantes (ondas electromagnéticas) (20).

El efecto leucemogénico de la radiación ionizante fue descrito inicialmente por von Jagic y col., en 1911. Desde entonces han sido reportados muchos casos individuales y pequeños grupos de leucemias atribuidas a exposición a la radiación (98). Las radiaciones ionizantes empleadas como terapéutica exógena en pacientes con neoplasias hematológicas (Hodgkin, LLC, linfomas no Hodgkin), tumores sólidos y enfermedades no neoplásicas (cuyo ejemplo más clásico es la espondilitis anquilosante), producen un incremento en la incidencia de leucemias agudas (principalmente LMA y en menor proporción LLA) superior al esperado (37,43). También las radiaciones endógenas en forma de terapia con isótopos radiactivos pueden contribuir etiológicamente al desarrollo de la leucemia aguda, tal es el caso de la policitemia vera con P32 y del hipertiroidismo con I131 (95,99). Por otro lado hay estudios en personal militar expuesto durante pruebas de explosiones nucleares en los que se ha demostrado un

incremento en la incidencia de LMA (37).

Sin embargo, de todos estos reportes los que muestran la evidencia mayor son los estudios en los sobrevivientes de las bombas atómicas de Hiroshima y Nagasaki. Estos pacientes presentan un periodo de latencia relativamente corto 5 a 21 años entre la exposición y la aparición de la leucemia (1,3,37,100,101). La cantidad y calidad de la exposición a la radiación ha sido cuidadosamente investigada y se ha demostrado una relación lineal entre dosis acumulativas y la incidencia de leucemia (95,97,100,101).

También se ha observado que la radiación por la bomba atómica produce aberraciones cromosómicas en una célula del sistema hematopoyético multipotencial común para líneas linfoides y mieloides (101). El reciente accidente 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 las bombas atómicas (102).

El mecanismo exacto de acción de las radiaciones ionizantes sobre las células hematopoyéticas y su transformación leucémica es desconocido, pero dado que la radiación ionizante aporta al material que la absorbe suficiente energía localizada para ionizar átomos y moléculas que se encuentran a su paso, origina mutaciones puntuales en los ácidos nucleicos. Este mecanismo se ha comprobado en perros expuestos a radiación in utero, 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 o 61, que codifican para glicinas y que son sustituidas por ácido aspártico, en la proteína P21 ras (95,98,102,103).

También se ha propuesto que la radiación causa activación de virus endógenos. Sin embargo, este mecanismo no ha sido demostrado en humanos, sólo en roedores (95,104-106).

Entre los daños cromosómicos que pueden producir las radiaciones ionizantes están principalmente los rearrreglos estructurales

(deleciones, translocaciones, anillos, dicéntricos, fragmentos acéntricos, figuras trí y tetra radiadas etc.) y marcadores cromosómicos adicionales (99,101-103). Se ha reportado trisomía 4 en pacientes con LMA-M4 desarrollada después de 8 años de exposición a radiación por cáncer de mama; y t(2;12); del(11q) y anillos en LLA bifenotípica secundaria a terapia con rayos X (107,108).

Los efectos biológicos de las radiaciones no ionizantes de baja energía han originado controversia. Experimentos en animales sugieren que las ondas electromagnéticas pueden ser leucemogénicas para el hombre. Sin embargo, en estudios epidemiológicos de leucemia en grupos ocupacionalmente expuestos no se ha encontrado ninguna relación entre la exposición y el riesgo de desarrollar leucemia (100).

#### 3.4 Factores Químicos.

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 (6,109,110).

Hay numerosos estudios en trabajadores ocupacionalmente expuestos a benceno con desarrollo de leucemia aguda; que 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 (1,2,37,95).

El clorafenicol (111), el hexaclorociclohexano (112) y la fenilbutazona (113) han sido implicados como agentes causales de leucemia aguda (LMA), sin embargo no hay evidencia suficiente que lo demuestre. También se han descrito casos de LMA en trabajadores que manejan óxido de etileno (114). Este producto en forma experimental tiene un alto poder mutagénico en diversos organismos tales como *Drosophila* y *Neurospora crassa* (95). También induce aberraciones cromosómicas excesivas en ratas y

linfocitos de personas expuestas accidentalmente ya que se usa en hospitales y en la industria alimenticia para esterilización. Su efecto mutagénico parece potenciarse en asociación con metilformato (95).

Existe evidencia de que la exposición ocupacional a otros agentes puede ser leucemogénica. Hay un reporte donde comparan adultos con LMA cuyos empleos implicaban contacto con varios químicos industriales, insecticidas o derivados del petróleo, con aquellos en cuyos empleos no hubiera tal exposición. En los paciente "expuestos" se encontró mayor frecuencia de aberraciones cromosómicas que en quienes no estuvieron expuestos (83% vs 24%). Además, se observó una mayor frecuencia de leucemia mieloblástica (M2) en los pacientes en contacto con estos productos, mientras que la leucemia mielomonocítica (M4) fue la más común en los no expuestos (115). En un estudio subsecuente realizado en 156 pacientes con 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 94% presentó cromosomas anormales en médula ósea (116).

#### 3.4.1 Fármacos Antineoplásicos.

Actualmente, los diversos tratamientos a base de radiación o quimioterapia en muchos desórdenes malignos, contribuyen a prolongar la sobrevivida 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 leucemia mieloblástica aguda (LMA) (10,37).

El tratamiento con gran variedad de agentes alquilantes del tipo de la procarbazona usada en el tratamiento de la enfermedad de Hodgkin (117-119), melfalan usado en un gran número de cánceres (120), clorambucil (121), ciclofosfamida (122) y otros agentes (122) produce en la mayoría de los casos LMA secundaria. Sin embargo, sus efectos han derivado de estudios en animales y no está enteramente probado que sean los responsables de la neoplasia secundaria (37).

Hay numerosos estudios en los que se ha demostrado que a largo plazo los fármacos antineoplásicos producen cambios citogenéticos, tales como monosomía 7, trisomía 8, del(7)(q22), del(11)(q23), t(4;11), monosomía 5, hipodiploidía y aberraciones estructurales múltiples (123,124,125). Estos datos están apoyados por reportes de rupturas cromosómicas inducidas *in vitro* con compuestos del tipo melfalan en los cromosomas 5,7,11,17 y significativamente en 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. (126).

En general los carcinógenos químicos pueden ser de dos tipos, completos e incompletos. Los primeros pueden producir neoplasias por sí mismos; mientras que los segundos requieren además exposición subsecuente de las células tratadas (iniciadoras) a agentes promotores, los cuales por sí mismos son carcinógenos. Estos agentes promotores también pueden conducir al desarrollo de neoplasias cuando se aplican a tejidos previamente tratados con dosis bajas de un carcinógeno completo, acción que por sí misma no produciría neoplasia (43).

Los agentes iniciadores y carcinógenos completos casi siempre dañan al DNA (genotóxicos), el evento iniciador implica interacción carcinógeno-DNA, con la subsecuente producción de daño. Esto ocurre con los agentes alquilantes al formar etil o metil derivados con las bases nitrogenadas del DNA. Las células iniciadoras persisten en el tejido por largo tiempo después de que el agente iniciador ha desaparecido y la lesión producida es estable y hereditaria. Sin embargo, se ignora cuáles podrían ser sustancias promotoras para la leucemogénesis (37,95).

## CAPITULO 4.

### REARBOLOS CROMOSOMICOS EN LEUCEMIAS AGUDAS.

#### 4.1 Antecedentes Históricos.

En los últimos 100 años se han incrementado los estudios sobre la función de los cambios cromosómicos en la transformación de una célula normal a neoplásica. Estos estudios se iniciaron en 1890 cuando se asoció por vez primera anomalías nucleares y mitóticas con el crecimiento neoplásico (127). Basado en estos hallazgos, en 1914 Boveri, presentó la teoría de la mutación somática en cáncer, en la que postulaba que las anomalías cromosómicas eran los cambios celulares que causaban la transición de proliferación normal a maligna (128).

Sin embargo, como no habían evidencias que las apoyaran, las ideas de Boveri quedaron olvidadas durante mucho tiempo, ya que las técnicas citogenéticas empleadas en esos años no eran adecuadas. No fue sino hasta los años 50's cuando se realizaron descubrimientos vitales para la metodología citogenética. Tales como el efecto de la colchicina sobre la formación del huso acromático y además el tratamiento con solución hipotónica que permite la distensión celular y la separación individual de los cromosomas (10,129).

Se desencadenó entonces un periodo de expansión de la citogenética de mamíferos destacando la descripción del número correcto de cromosomas en el hombre por Tjio y Levan en 1956 (130). Nowell (1960) descubrió que la fitoheماغlutinina (PHA) tiene un efecto mitogénico en linfocitos in vitro (131). Al mismo tiempo Moorhead y cols, desarrollan un método de cultivo de sangre periférica rápido y eficiente (132).

Estos adelantos técnicos permitieron ampliar las investigaciones sobre la citogenética y el cáncer. Nowell y Hungerford (1960), describieron la primera anomalía cromosómica consistente en cáncer humano: el cromosoma Filadelfia (Ph') en pacientes con Leucemia Granulocítica Crónica (LGC) (133). Este descubrimiento verifica la hipótesis de Boveri y da por hecho que una



anormalidad cromosómica adquirida es la causa directa del estado neoplásico (10).

La introducción de los métodos de bandeado cromosómico por Casperson y cols (1975), revolucionan los estudios citogenéticos en cáncer (134), al descubrirse que aberraciones cromosómicas constantes se asocian con diversos tipos de tumores; además, se demuestra que las anomalías cromosómicas se relacionan con el desarrollo y progresión neoplásica (43,135). La aplicación de técnicas de alta resolución permitió una definición más precisa de los rearrreglos cromosómicos. Usando estas técnicas se han demostrado anomalías cromosómicas en aproximadamente 95% de los pacientes con leucemia aguda (43,76,136).

Con el advenimiento de las técnicas de genética molecular y su combinación con los progresos en otras áreas de la biología celular y tumoral se ha logrado elucidar, en muchos casos, el mecanismo molecular implicado en la iniciación y progresión neoplásica (137), aunque aun queda mucho por estudiar y descubrir.

#### 4.2 Metodología Citogenética.

El estudio citogenético de las leucemias se realiza en un aspirado de médula ósea que se procesa directamente o se cultiva por 24-72 horas (43,138). En pacientes con un conteo de células blancas mayor de 15,000 con aproximadamente 10% de células mieloides inmaduras, puede cultivarse una muestra de sangre periférica durante 48-72 horas sin adicionar PHA. El cariotipo de las células en división será similar al obtenido de la médula ósea (137).

La actividad mitótica natural de la médula ósea es usada para el análisis cromosómico directo. El estudio de estas células es representativo de las poblaciones que se están dividiendo in vivo en el momento en que se hizo el aspirado; mientras que en un cultivo la división celular se efectúa in vitro (139). Por ello, ha surgido la duda acerca del origen leucémico o no de las células granulopoyéticas obtenidas mediante cultivo. Esta ha sido en gran parte aclarada, por varios autores, con la observación de

clonas leucémicas con cromosomas marcadores (140-143).

Las aberraciones cromosómicas han sido usadas como marcadores celulares en el estudio de la interrelación de las distintas poblaciones celulares en las leucemias. Se han encontrado varias ventajas del cultivo de células sobre el método directo, independientemente de que sean estimuladas o no (144,145). En los cultivos hay un incremento en el número de metafases producidas a favor de las células cromosómicamente anormales con respecto a las células normales, al parecer las células leucémicas ejercen una inhibición de las células normales o estas células con alteraciones cromosómicas están en ventaja proliferativa (99,139,144,145).

La morfología de los cromosomas se mejora con las preparaciones cultivadas lo que se refleja en el número de bandas obtenidas en los cultivos. Además, es más probable obtener un resultado positivo de preparaciones cultivadas que de las directas. La ventaja más significativa del cultivo de médula ósea y sangre periférica es que se detectan líneas celulares cromosómicamente anormales, las cuales no son evidentes en preparaciones directas. Sin embargo, tiene una desventaja y es la estimulación de clonas normales desarrolladas *in vitro* (99,144,145). Está claro que el resultado citogenético de un paciente difiere si se basa en preparaciones de médula ósea directa o cultivada y esto se relaciona directamente con el pronóstico del paciente, por ello es importante comparar las anomalías cromosómicas encontradas por ambos métodos en cada población.

Los cromosomas obtenidos ya sea por cultivo o por método directo se identifican por medio de técnicas de tinción que producen una serie de bandas características a lo largo de los cromosomas. Entre las técnicas de bandeado cromosómico se encuentran las bandas Q, G, R, T, C y NOR principalmente. Las más usadas en leucemias son las bandas G y Q que dan básicamente el mismo patrón (43,99,146-148).

Las bandas Q se producen por tratamiento de los cromosomas con colorantes fluorescentes del tipo 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 (149). Un método para producir bandas G es el tratamiento de los cromosomas con una solución de tripsina y posteriormente tinción con Giemsa; de esta forma se pone de manifiesto la estructura cromosómica básica de los cromosomas en metafase. Las preparaciones son analizadas con un microscopio de luz convencional (150).

Las bandas R o bandas reversas son producidas por cromomicina y naranja de acridina, dan un patrón inverso al de las bandas G/G (151). Una variante de éstas son las bandas T que se usan para delinear los segmentos terminales de los cromosomas (telómeros) para poder identificar los puntos de ruptura en algunas translocaciones (152).

La técnica de bandas C fue introducida por Sumner y cols, en 1977 (153) y es usada para identificar las regiones pericentroméricas y heterocromáticas de los cromosomas. Estas últimas están localizadas en el hombre en los cromosomas 1, 9, 16 y brazos largos del Y. Se ha demostrado, en diferentes grupos étnicos, que estos cromosomas son altamente polimórficos (154,155). La importancia de estas regiones en las leucemias radica en la asociación de heterocromatina y cáncer (156-160). Parece ser que un incremento de este material facilita el intercambio de cromosomas por un entrecruzamiento desigual; produciendo homo o hemigocidad de genes importantes para el desarrollo de la neoplasia (161).

Las técnicas estándar directas o las de cultivos de corto tiempo producen preparaciones con un índice mitótico bajo y cromosomas pobremente bandeados (150 a 320 bandas por grupo haploide). Las nuevas técnicas de alta resolución y sincronización de células con metrotexate hacen posible obtener una mayor calidad en las preparaciones cromosómicas, ya que incrementan el índice mitótico y proveen de células con cromosomas elongados que dan un número mayor de bandas (hasta 1,200 por grupo haploide) (43,139,146-148).

#### 4.3 Nomenclatura.

Comúnmente se usa la Nomenclatura de París para la descripción de cariotipos (147,162,163). Esta señala que en primer lugar se

indica 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 y después del cromosoma y brazo indica ganancia o pérdida de un segmento. Las translocaciones son identificadas por la letra "t" seguida de los cromosomas implicados en el primer paréntesis, las bandas del cromosoma en las que ocurrieron las rupturas son indicadas en el segundo paréntesis. Se indica brazo "p" o "q", número de región, banda y subbanda. La incertidumbre respecto al cromosoma o banda implicados es denotada por un signo de interrogación (?). Otras anomalías estructurales se designan con "i" isocromosoma, "r" cromosoma en anillo, "mar" marcador, "del" deleción, "ins" inserción, "inv" inversión, "dup" duplicación, "der" derivado, (147,162,163).

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 (146).

Innumerables estudios se han publicado sobre los cambios cromosómicos en las células cancerosas (10); el mayor problema de estos estudios es distinguir los eventos primarios de los secundarios. Esto es importante ya que a través de los cambios cromosómicos se puede diferenciar el crecimiento de las clones tumorales (164).

Hein y Mitelman (165), sugieren que las aberraciones cromosómicas en desórdenes neoplásicos son de tres tipos: a) anomalías primarias que se encuentran frecuentemente como anomalía única en cáncer y se asocian específicamente con un tipo de tumor en particular. Estas son el paso esencial en el establecimiento de la neoplasia. b) Anomalías secundarias que nunca se encuentran como cambios únicos, a menudo son adicionales a las anomalías primarias y son importantes en la progresión tumoral. c) Ruido Citogenético constituido por cambios cromosómicos que son el último nivel de aberraciones no consecutivas, que no ejercen un papel trascendental en la

progresión tumoral (10,164,165).

#### 4.4 Rearreglos Cromosómicos en Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA).

Los estudios citogenéticos en leucemia linfoblástica aguda (LLA) no han sido tan amplios como en LMA. Con las primeras técnicas de bandedo espleadas sólo se encontraban anomalías cromosómicas clonales en 50% de los casos estudiados (99,166,167). Con el perfeccionamiento de las técnicas de cultivo este porcentaje se ha incrementado y ahora aproximadamente 75% de los casos tienen cambios cromosómicos demostrables. Por ejemplo, en la revisión del Tercer Taller Internacional de Cromosomas en Leucemia Aguda (168,169), se revisaron 330 pacientes con LLA y se encontraron aberraciones cromosómicas clonales en 66% y no clonales en 17% de éstas. Otros estudios similares reportan cambios cromosómicos clonales en 78% y 94% de los casos de LLA (171,172). Del análisis de estos resultados queda bien establecido que la mayoría pero no todos, los pacientes con LLA tienen anomalías cromosómicas en sus células leucémicas de médula ósea al momento del diagnóstico.

##### 4.4.1 Anomalías Numéricas.

###### A. Hiperdiploidía.

Varios grupos han reportado que los cambios cromosómicos numéricos (ploidía) ejercen una influencia significativa en el diagnóstico, clasificación y como guía para establecer el pronóstico en pacientes con LLA (17,76,169,173-175). La hiperdiploidía masiva se ha visto que es mucho más frecuente en LLA que en LMA. De 1,200 casos de LLA reportados en la literatura con cambios citogenéticos identificados por técnicas de bandas más del 30% presentan hiperdiploidía (20% tienen entre 47 y 49 cromosomas y 12% tienen más de 50) (169,176,177).

Estas variaciones numéricas se restringen a leucemias con inmunofenotipo de la línea-B y pre-B y morfología L1 o L2 de células nulas (17,76,177). Las L2 tienen sólo moderada hiperdiploidía y en el subgrupo L1 20% de los casos tiene marcada hiperdiploidía con más de 50 cromosomas. Los cromosomas extras implicados con mayor frecuencia son 4,6,10,18 y 21

(76,146,168,169,178).

Algunos parámetros clínicos son característicos del subgrupo de LLA con hiperdiploidía. Esta restringida a la población masculina con una edad promedio de 5 años (rango entre 2-10 años); los pacientes tienen una cuenta leucocitaria baja y niveles bajos de deshidrogenasa láctica (17,169,173,175). Pacientes con más de 50 cromosomas tienen un pronóstico favorable, presentan una remisión completa más larga (>40 meses) y una sobrevida mayor después de la quimioterapia (más de 36 meses en niños y más de 21 en adultos) (76,169,171,173). Pacientes con 47 a 49 cromosomas tienen un pronóstico intermedio (sobrevida de 15 meses en niños) (76,189).

La hiperdiploidía puede detectarse por medición del contenido celular de DNA (citometría de flujo), en cualquier etapa de la proliferación celular. Esto ha permitido relacionar la cantidad de DNA con los subtipos morfológicos e inmunológicos de leucemia. Así, en un estudio de 98 niños, la hiperdiploidía en LLA se asoció con la expresión del marcador de superficie LLAc, tri o tetrasomías del cromosoma 21, menor conteo de leucocitos periféricos que en los pacientes diploides, mayor sobrevida y buen pronóstico (179).

#### B. Hipodiploidía y casi haploidía en LLA.

La hipodiploidía en LLA es un evento relativamente raro que afecta sólo de 3-10% de los pacientes y su significado pronóstico es controversial (169,173,174). Se relaciona sólo con los subtipos morfológicos L1 y L2, siendo más frecuente en L2 con inmunofenotipo de LLA común. Los casos de hipodiploidía están restringidos a niños entre 2 y 10 años; con niveles de deshidrogenasa láctica altos y frecuentemente se acompañan o son secundarios a un rearrreglo cromosómico estructural (10,174).

La presencia en LLA de células leucémicas con un número cromosómico casi haploide es raro; sólo se han reportado 9 casos en la literatura (168,169,180-185). Esta alteración citogenética no ha sido descrita en LMA, por lo que se sugiere una evolución clonal no azarosa del cariotipo (183). Este subgrupo presenta un número modal de cromosomas entre 26-28 y frecuentemente hay cromosomas adicionales a la haploidía (cromosomas 21,10,14,18,Y y/o 16) (186,187).

TABLA VII. ANORMALIDADES CROMOSOMICAS ESTRUCTURALES PRIMARIAS EN LLA (10).

PUNTO DE RUPTURA	REARREGLO	MORFOLOGIA MAS FRECUENTE.	INMUNOFENOTIPO ASOCIADO.
1p32	t(1;11)(p32;q23)	L1	LLA pre-B
1q23	t(1;19)(q23;p13)	L1	LLA pre-B
2p12	t(2;8)(p12;q24)	L3	LLA-B
4q21	t(4;11)(q21;q23)	L1,L2	LLA precursor-B temprano Fenotipo mixto
6q	del(6q)(qvariable)	L1,L2	LLA-común
8q24	t(8;14)(q24;q11)	-	LLA-T
	t(8;14)(q24;q32)	L3	LLA-B
	t(8;22)(q24;q11)	L3	LLA-B
9p	t/del(9p)	L1,L2	LLA precursor-T temprano LLA-T
9q34	t(9;22)(q34;q11)	L1,L2	LLA precursor-B temprano LLA-común LLA-pre-B
10q24	t(10;14)(q24;q11)	L1,L2	LLA-T
11p13	t(11;14)(p13;q11)	L1,L2	LLA-T
11q23	t(11;14)(q23;q32)	-	-
12p	t/del(12p)	L1,L2	LLA-común
14q11	t/del(14)(q11)	L1,L2	LLA-T
14q32	t/del(14)(q32)	-	LLA-T
17q11	t(17;19)(q11;p13)	L1	LLA-B

A. t(1;19)(q23;p23).

Este rearrreglo fue descrito en 1984 por tres grupos de investigadores independientes (190-192). Inicialmente no se sabía si era el brazo corto o largo del cromosoma 19 el que estaba implicado en la translocación; este problema se solucionó con el análisis de cromosomas profásicos obtenidos mediante técnicas de alta resolución. Se determinó que el punto de ruptura estaba en el brazo corto, banda 19p13.3 (193).

El rearrreglo puede ocurrir en dos formas: como una translocación balanceada donde las células tienen un cromosoma 1q- y el 19p+; y como una translocación no balanceada donde los dos cromosomas 1's son normales y hay material cromosómico adicional derivado del 1 en 19p+; aparentemente la segunda forma es la más común (194).

La t(1;19) se asocia específicamente con el fenotipo de LLA pre-B y las células generalmente tienen morfología de L1 por FAB (190,192). La incidencia de LLA pre-B con t(1;19) se desconoce, aunque parece ser baja su frecuencia. No se ha podido establecer el pronóstico para los pacientes con esta anomalía, pero se consideran dentro del grupo de alto riesgo (173,190-194).

No se conoce aun el mecanismo exacto por medio del cual la t(1;19)(q23;p13) participa en la leucemogénesis. Un oncogén celular c-ski ha sido mapeado en 1q23. También la secuencia del gen para el receptor de insulina ha sido mapeada en 19p13 (195). Este es estructuralmente homólogo al receptor para el factor de crecimiento epidérmico (erb-B) y al producto de los oncogenes de la familia src. Un rearrreglo de estos loci puede ser el evento patogénico asociado a la LLA con t(1;19), pero aun no está comprobado.

B. t(4;11)(q21;q23).

Este rearrreglo fue reportado como una anomalía consistente en LLA por Van Den Berghe en 1979 (196). En la actualidad se ha observado en pacientes de todas las edades, pero más frecuentemente en niños (la mayoría femeninos) (197). La t(4;11) se asocia a LLA en niños de edad temprana (menores de un año) y neonatos (a menudo congénita) (146,198).



de las técnicas de bandeado (207). Cuando se pudo analizar cromosomas leucémicos bandeados, se observó que el Ph' en leucemias agudas era morfológicamente indistinguible de la t(9;22)(q34;q11) específica de LGC. A partir de aquí, surge la interrogante de si la LLA Ph+ verdaderamente representa una leucemia aguda de novo o es un estado blástico de LGC, no diagnosticado previamente. Esta confusión se ha atribuido a que 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 (75,208,209,211,216,217).

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

1) Citogenéticamente hay otros rearrreglos cromosómicos como del(10q), t(1;4), +4, -20, +19, inv(3) que han sido reportadas tanto en pacientes con LLA Ph+ como Ph- y que están ausentes o no se han reportado en la crisis blástica de LGC, ni en las LMA Ph+ (75,216,217).

2) En la crisis blástica de LGC el cromosoma Ph' está presente en prácticamente todas las líneas celulares; en cambio en las LLA Ph+ se ha visto que está ausente en colonias no linfoblásticas, como las eritroides y mononucleares entre otras (211).

3) La existencia de células cromosómicamente normales con células anormales en cualquier fase de la enfermedad, se manifiesta como factor exclusivo de las LLA Ph+ (218).

4) En las LGC se presentan translocaciones variantes del cromosoma Ph' que pueden involucrar tres o más cromosomas. Estos rearrreglos frecuentemente implican un segmento deletado de 22q translocado a otro cromosoma diferente del 9, principalmente el 2. En la mayoría de estos rearrreglos citogenéticamente no parece participar el cromosoma 9 pero, molecularmente si se detecta su presencia en el rearrreglo (218).

5) Hay casos de LGC en los que el Ph' no se reconoce en los intercambios complejos, que correspondería a un Ph' enmascarado, pero por técnicas moleculares se ve que si está implicado el cromosoma 22. Esto no se presenta en las LLA Ph+ (219).

6) La LLA Ph+ es más común en adultos, con una incidencia de 15-20% y de 5% en niños (168,169). Se caracteriza por una proliferación extrema y rápido crecimiento de blastos que presentan diferenciación hacia la línea B y muy ocasionalmente exhiben factores de la línea T. El inunofenotipo de los blastos es compatible con células B inmaduras por ejemplo de LLA de precursores-B, LLA común o LLA pre-B, esto no se observa en las LGC (208,210-212).

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 la LLA Ph- y de la LGC (213).

8) Clínicamente la diferencia más significativa entre los pacientes con LGC en crisis blástica y los pacientes con LLA Ph+, es que estos últimos responden pobremente a la terapia y sólo 54% alcanza la remisión completa (con duración de 8-12 meses). Esto indica que el mantenimiento con la quimioterapia no es satisfactorio por lo que se deben practicar terapias alternativas como el trasplante de médula ósea durante la primera remisión. Pero a pesar de todos los regímenes terapéuticos la sobrevida de los pacientes es corta, 12 meses (168,169,173,214,215).

Se han mapeado dos oncogenes en los cromosomas implicados en la translocación Ph'. El proto-oncogén c-abl (9q34.1) que es el homólogo celular normal del gen transformante del virus de la leucemia murina de Abelson, que causa leucemia de células pre-B en el ratón. El oncogén c-mis (22q12.3-13.1) que es el homólogo celular normal del gen transformante del virus de sarcoma simiano que causa sarcomas en primates no-humanos (15,75,209,221-22-).

El proto-oncogén c-mis se ha 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 colágena en los fibroblastos. Ambos oncogenes se intercambian recíprocamente en la t(9;22), pero el c-mis no participa activamente en el rearrreglo y por lo tanto en la patogénesis de las LGC, aunque se desconoce su papel en los casos de leucemia asociada a mielofibrosis (15,75,221-225).

El gen c-abl tiene una longitud de 230 kpb y comprende 11 exones de los cuales el primero en el extremo 5' es alternativo (1a ó

Ib) y los restantes son constantes (15,75,221-224). El primer exón está separado de los otros por una secuencia intrónica larga de 175 kb. Los intrones inmediatos carecen de secuencias tales como TATA y CAAT, en cambio son regiones ricas en GC y contienen múltiples secuencias repetitivas de GGCCGGC. Esta secuencia repetitiva se ha asociado con la regulación de la transcripción *in vitro*. La ruptura en el cromosoma 9 ocurre en un sitio variable en el extremo 5' de c-abl (15,75,222).

La ruptura en el cromosoma 22 ocurre en una región de 16 kpb llamada "breakpoint cluster region" (bcr). El gen bcr está compuesto por aproximadamente 13 exones que codifican para 1271 aminoácidos. El segmento de DNA que cierra la lectura en 3' contiene más de 80% de GC y dos segmentos repetitivos (posiciones 113 a 130 y 376 a 393) que regulan su transcripción. El punto de ruptura cae en los 6 exones intermedios denominándose región mayor bcr (mbcr) (15,75,222).

En todas las células analizadas normales o no, los genes c-abl y bcr son transcritos a RNAs poliadenilados que originan RNAs de 4.5 y 7 kb respectivamente. En células con la t(9;22) el nuevo RNA transcrito de c-abl es de 8.5 kb y contiene las secuencias del extremo 5' de bcr (3.3 kb). El c-abl normal y la secuencia quimérica c-abl/bcr son idénticos en el extremo 3', pero diferentes en 5'. La ruptura en bcr puede ocurrir después de los exones 1, 2 ó 3 de la región mbcr pero nunca en 4, 5 ó 6. Esta ruptura debe ser específica ya que ciertas regiones críticas de los polipéptidos bcr y c-abl tienen que ser incluidas en la proteína fusionada para conferir la actividad biológica de la proteína quimérica (15,75,209,220-224).

Los exones variables del c-abl Ia e Ib son excluidos del RNA quimérico bcr/c-abl. Esto puede ocurrir porque la ruptura cromosómica ocurra en cualquier exón constante del extremo 3' y entonces el exón variable permanece en el cromosoma 9. Por otro lado es más común la ruptura en Ia, por lo que este exón puede estar incluido en el transcrito primario, pero debido a que no tiene un sitio de unión al extremo 5' de bcr es deletado del transcrito primario (15,75,220-224).

De la secuencia del DNA se sugiere que el RNA<sub>m</sub> de bcr codifica para una proteína de 142 kd (1271 aa). Esta secuencia contiene un sitio de unión a ATP, que sugiere que la proteína bcr puede ser una cinasa. La proteína tiene un porcentaje relativamente alto de serina 9%. Estas serinas están algunas veces agrupadas en pares y algunas son precedidas por aminoácidos con carga (-), que son sitios potenciales de fosforilación. La proteína no tiene un dominio transmembrana y no tiene glicinas en su extremo amino terminal, lo que indica que la proteína bcr no está unida a membrana. La función del producto del gen bcr es desconocida (15,75,209,220-224).

El RNA<sub>m</sub> normal de c-abl se traduce a dos proteínas de 145 kd designadas como P145, que difieren en su extremo amino terminal dependiendo de la inclusión de los exones alternativos Ia e Ib. P145 es altamente homóloga al producto del gen v-abl murino normal de 150 kd y presenta homología substancial con la región cinasa de una familia de oncogenes virales (15,75,222).

El transcrito quimérico bcr/c-abl de 8.5 kpb se traduce a una proteína quimérica de 210 kd en las células de las LGC. La proteína quimérica contiene 1104 aminoácidos del c-abl y 927 o 902 aminoácidos de bcr, dependiendo de la inclusión del exón 3'. En contraste con la P145, la P210 tiene una actividad incrementada de tirosina-cinasa, que está relacionada con la substitución. En P210 aproximadamente 25 aminoácidos, normalmente presentes en el extremo amino de c-abl, son reemplazados por 600 a 700 residuos (15,75,222).

Aproximadamente 15% de las LLA tienen Ph<sup>+</sup>. Sin embargo, sólo la mitad tienen un defecto molecular similar al de las LGC, la otra mitad tiene otros rearrreglos de la región bcr y expresión de una proteína anormal la P190 que también tiene una actividad incrementada de tirosina-cinasa (220).

La ruptura en bcr en las LGC ocurre entre los exones 2 y 5 de la región mayor de bcr. En los casos de LLA Ph<sup>+</sup>, que presentan rearrreglos diferentes, la ruptura ocurre en el primer exón del extremo 5' de la región mbcr. En algunos casos no se han detectado los puntos de ruptura, pero son diferentes a los de las LGC. Se ha establecido una correlación entre las edades de los pacientes y los puntos de ruptura. Los que tienen rearrreglos no detectables están entre las edades de 4-8 años, mientras que los otros son en su mayoría pacientes adultos. Esto es indicativo de

que las LLA Ph+ en niños tienen bases moleculares diferentes (75,220-224).

Por todas estas diferencias y semejanzas se ha propuesto que las LLA Ph+ con rearrreglos en bcr pueden representar un estado final de LGC frecuentemente asintomáticos que escaparon a la detección temprana. Comprende pacientes con rearrreglos en bcr que pueden predisponer al desarrollo de una leucemia aguda *de novo*. Esta situación puede ser análoga a la descrita para el linfoma de Burkitt con t(8;14) en donde los puntos de ruptura producen alteraciones moleculares del c-myc que se asocian con variantes fenotípicas de la enfermedad: linfoma de Burkitt esporádico vs endémico (226).

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

Estas translocaciones se han asociado específicamente a neoplasias de células-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 LLA de células-B tipo L3 correspondan a diferentes manifestaciones de la misma enfermedad (4,6,76).

Inicialmente Manolov y cols, en 1973 observaron en pacientes con linfoma de Burkitt una banda adicional en el cromosoma 14 (323). Otros autores confirmaron estos hallazgos y se estableció el marcador 14q+ como anomalía cromosómica consistente en neoplasias de células-B (4,6,13). La naturaleza del rearrreglo se estableció por técnicas de alta resolución como una t(8;14)(q24;q32) y posteriormente los puntos de ruptura se identificaron en las sub-bandas 8q24.13 y 14q32.33 (324,325).

La t(8;14) se presenta en 75-85% de los casos y el resto presenta una translocación variante que implica a 8q24; y puede ser t(8;22)(q24;q11) ó t(2;8)(p12;q24) (10,13,76). Sin embargo, se han reportado cambios cromosómicos adicionales a estas translocaciones en 70% de los casos (326). Los rearrreglos estructurales en el cromosoma 1 son las anomalías secundarias

más frecuentes, en particular la trisomía parcial de 1q presente en 30% de los pacientes (4,6,10,13).

El mecanismo patogénico propuesto para estos rearrreglos es el movimiento del oncogén c-myc localizado en la parte distal del cromosoma 8 (8q24), que es translocado a los cromosomas 14, 2 ó 22. Esto produce un rearrreglo entre c-myc y el locus de cadenas pesadas de Ig en 14q32, de cadenas ligeras kappa en 2p12 ó lambda en 22q11 (10,14,17,76).

El oncogén c-myc consta de tres exones interrumpidos por dos intrones. El primero en el extremo 5' tiene un codón de terminación y por lo tanto no se traduce a proteína. El segundo y tercer exones se transcriben a mRNA y se traducen a una proteína con propiedades de unión a DNA (10,15,72,73,76,78,79). 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 (10,76).

El punto de ruptura en 14q32 ocurre en el locus de cadenas pesadas de Ig, en la mayoría de los casos en el segmento que codifica para la región constante (C) (15,76). En las translocaciones variantes el rearrreglo 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 rearrreglos puede activar el oncogén 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 (10,15,76,78,79).

Cualquiera que sea el mecanismo molecular implicado en el rearrreglo, éste afecta la producción de Ig por las células-B y se restringe al subtipo L3 de LLA del FAB. Estos pacientes tienen una remisión muy corta (4 meses) con la terapia convencional por lo que se encuentran dentro del grupo de alto riesgo (sobrevida de 5 meses en promedio) (10,76).

## E. del (6q).

La delección del brazo largo del cromosoma 6 [del (6q)] es un cambio cromosómico relativamente común en LLA, aparece en 5-10% de los casos como anomalía clonal (168,169). Esta alteración también se ha observado en 25% de los linfomas no-Hodgkin's y desórdenes linfoproliferativos crónicos, pero nunca se ha encontrado en LMA. La razón de esta especificidad celular se desconoce (185).

La LLA con del(6q) predomina en niños y adolescentes y se asocia con morfología L1 o L2 e inmunofenotipo de células-B. Sólo ocasionalmente se presenta en L3 y algunos casos de LLA de la línea T. En la mayoría de los casos se trata del subgrupo de LLA-común (10,226). El pronóstico de este subtipo es bueno, tienen una supervivencia de 29 meses, 75% de los casos entra en remisión completa y permanecen en ella aproximadamente 25 meses (168,169,173).

Los puntos de ruptura varían considerablemente y hay incertidumbre acerca de si es intersticial o terminal. Por analogía con la delección adquirida del(5q) en neoplasias mieloides, se han tratado de aclarar los puntos de ruptura. En la mayoría se han localizado en 6q15 y 6q21-q25 (76,166,227).

El oncogén celular c-myb se ha mapeado en 6q22, por lo que varios autores han estudiado en pacientes con la del(6q) la expresión de este oncogén. Por técnicas de hibridación *in situ* se ha determinado que el locus c-myb no está implicado directamente, pero se han encontrado niveles elevados de RNAs de c-myb en las células malignas con la del(6q) (228). Además, en 6q21 y 6q26 se localizan sitios frágiles comunes; que se expresan en cultivos que contienen hidilcolina (228). Estos hallazgos sugieren que hay sitios susceptibles de sufrir alteraciones que afectan la expresión de c-myb. Estos se relacionan con la pérdida de un segmento cromosómico con actividad antioncogénica que podría ser el elemento responsable de la leucemogénesis en LLA con del(6)(q21) (10).

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

Kowalczyk y Sandberg en 1983 describieron siete niños con LLA y varios rearrreglos cromosómicos que afectan el brazo corto del cromosoma 9. El común denominador en esas deleciones, translocaciones y monosomias es la pérdida del segmento comprendido entre 9p21-pter. Estos pacientes se caracterizan por un inmunofenotipo compatible con células-T, marcada leucocitosis, esplenomegalia y nódulos linfáticos agrandados y con mayor incidencia entre la población adolescente. Los autores proponen que se trate de un nuevo subtipo de LLA con t(9p) o del(9p)(229).

Otros autores apoyan los datos de Kowalczyk y Sandberg, al reportar puntos de ruptura en 9p21-22 y factores linfomatosos no comunes en LLA de células-T (230,231). Lo que demuestra un nuevo subgrupo de LLA con t o del(9p). El mecanismo por el cual el material cromosómico se pierde es muy variado e incluye deleciones, translocaciones no balanceadas y pérdida completa del cromosoma 9 (10).

Al establecer similitudes con retinoblastoma y tumor de Wilm's; se sugiere que hay una pérdida de genes regulatorios (antioncogenes) localizados en 9p21-22. Esto aunado a la pérdida de la actividad enzimática de fosforilasa (metil-adenosín-fosforilasa) en las células leucémicas con 9p-; constituirían los eventos primarios en el proceso leucémico (10,229-231).

G. t(12;V)(p12,v) o del(12)(p12).

Las aberraciones estructurales de 12p, principalmente, deleciones, han sido asociadas generalmente a LMA secundaria y sólo a algunos casos de LLA. Raimondi y cols. (1986), reportan rearrreglos no específicos en 12p en 23 de 241 casos de LLA infantil (232). Todos tenían morfología de L1 por FAB y excepto uno inmunofenotipo de LLA común. 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 (10,232).



Fatich y cols. (1989) reportan 11 pacientes con anomalías estructurales que afectan 12p11-13 (16) y comparan sus resultados con los anteriores, encontrando varias similitudes importantes: a) la frecuencia de aberraciones estructurales en 12p11-13 es alta (10.5% y 9.5% respectivamente); b) en ambos reportes las translocaciones implican 12p11-13 y cromosomas variables y c) la mayoría de los pacientes tienen inmunofenotipo de LLA común de la línea-B CALLA+. De lo anterior es evidente que hay suficiente material para clasificar a las LLA con t o del (12p) como un nuevo subtipo citogenético (10,16,232). El mecanismo molecular propuesto para este rearrreglo implica al oncogén celular c-K-ras2 localizado en 12p12.1, pero aun se desconoce su participación en la proliferación celular maligna (10,58).

H. t (7,V) o del (7q).

Las anomalías numéricas y estructurales del cromosoma 7 son comunes en los desórdenes hematológicos principalmente LMA. Sin embargo, se han reportado 18 casos de niños con LLA que presentan rearrreglos en 7q (20). Los puntos de ruptura en los rearrreglos estructurales de 7q son variables, pero específicos para un inmunofenotipo determinado (10,20).

En los casos de LLA de células-T los puntos de ruptura se restringen a la región terminal de 7q (7q32 y 7q36); cuando el precursor implicado es de células-B la ruptura ocurre en la región proximal de 7q (7q11 y 7q22) (20). Con estos estudios se crea otro subgrupo de LLA con anomalías en 7qter a inmunofenotipo específico.

El mecanismo molecular establecido para estos rearrreglos, implica la activación de genes del locus de TCR (cadena beta del receptor de células-T) localizado en 7q32-q36. También participa el oncogén c-met localizado en 7q31 y los sitios frágiles comunes 7q31.2 ; 7q32.3 y 7q36 (20,58). Estos últimos son más susceptibles a la acción de agentes carcinogénicos originando el rearrreglo cromosómico que establece el fenotipo maligno .

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

Estas tres aberraciones fueron asociadas con neoplasias de células-T por varios autores (233-235). Las enfermedades hematológicas implicadas en la mayoría de los casos son LLA, algunos casos de leucemia de células-T crónica o la fase leucémica de los linfomas de células-T (234).

Aparte de la asociación con la línea-T, no hay factores clínicos que distingan a estos pacientes de otros subgrupos de LLA. La morfología de las células de médula ósea es de L1 o L2. Molecularmente estas anormalidades están bien definidas: las tres implican una ruptura proximal en el brazo largo del cromosoma 14 y en la mayoría de los casos, en la banda 14q11. Ocasionalmente 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 subbanda 14q11.2 (10,236).

Los genes para las cadenas alfa y delta del receptor de células-T (TCR) se localizan en 14(q11) (234), que es la banda donde ocurre la ruptura en estas translocaciones. Erikson y Lewis (237,238) independientemente demostraron que el gen alfa de TCR está relacionado con la t(11;14)(q13;q11) específica de la línea-T. Este locus presenta homología secuencial con los genes de inmunoglobulinas. Es decir tiene regiones variable (V), constante (C) y de unión (J), delimitadas por secuencias repetitivas (234-238). Estudiando el punto de ruptura en el locus se observó que ocurre entre las regiones V y C; por lo que las regiones J y C se translocan al derivado 11p+ y la región V permanece en el marcador 14q-. Estos resultados han permitido determinar la orientación de estas regiones la cual es: centrómero - región V - región J - región C - telómero. La importancia del rearrreglo en 11p13 es la separación de regiones que produce (14-16,18,21,234-238).

El oncogén Mras-1 se ha mapeado en 11p13-14 y parece ser que su expresión se incrementa o se modifica cuando se combina con el locus de cadenas alfa de TCR. El mecanismo del rearrreglo entre estos genes se desconoce pero Erikson y cols, lo han denominado

tcl-2 (237). Esta hipótesis se originó al compararlo con el rearrreglo que ocurre en neoplasias de células-B con t(8;14)(q24;q32). En este caso hay un rearrreglo entre el locus de cadenas pesadas de Ig (14q32) y el c-myc (8q24) (14,18,234,237).

Ese mismo modelo de recombinación molecular se ha propuesto para la t(8;14)(q24;q11) en células-T. El mismo sistema enzimático responsable de la unión V-J participa en la recombinación c-myc y TCR (239). Esta relación muestra como los rearrreglos citogenéticos participan en el crecimiento neoplásico, y las similitudes que existen entre dos tipos de moléculas de reconocimiento (Ig y TCR) y las células que las producen (10).

Dubé y cols. (1986) describieron la asociación entre la t(10;14)(q24;q11) y neoplasias de células-T. Sugirieron que el locus de la desoxinucleotidil transferasa terminal (IdT), mapeado en 10q24, era el responsable de la patogénesis de la enfermedad (233). Actualmente por estudios de hibridización y clonación molecular se ha encontrado que en realidad lo que ocurre es una división del locus de cadenas delta de TCR. En el derivado 10q+ permanece el gen IdT completo y las regiones D y J de TCR, mientras que la región V queda en el marcador 14q-. El punto de ruptura abarca una región de aproximadamente 263 pb en el cromosoma 10 donde se localizan sitios frágiles raros (10q23.3 y 10q24.2) y comunes (10q22.1) que pueden ser los responsables del rearrreglo (19,240).

De los pacientes con alteraciones cromosómicas de cualquiera de estos tres tipos y sus variantes, 60% alcanza la remisión completa con duración de 4 meses. En general tienen una sobrevida corta (4 meses) cuando se presentan como anormalidad primaria única. Pero el pronóstico se modifica alargando la sobrevida cuando el paciente desarrolla como anormalidad secundaria, hiperdiploidia (más de 50 cromosomas). Sin embargo cuando se trata de LLA en niños estas anormalidades son consideradas de alto riesgo. De hecho, son candidatos primarios para experimentar nuevas posibilidades de tratamiento (10,168,169,173).

#### 4.5 Rearreglos Cromosómicos en Leucemia Mieloblástica Aguda (LMA).

Inicialmente se detectaron anomalías cromosómicas con método estándar en 50% de los pacientes con LMA (36). Con la introducción de nuevas técnicas de cultivo y de bandejo cromosómico este porcentaje se ha incrementado. En la actualidad se considera que más de 2/3 (70-80%) de los pacientes con LMA tienen anomalías cromosómicas al diagnosticarse (241-245).

En el primero, segundo y cuarto talleres de Cromosomas en Leucemia (1978, 1980, 1984), se estableció una correlación entre ciertas anomalías cromosómicas y la morfología de las células blásticas y/o el curso clínico de la LMA (245-247). Esta concordancia entre las características citogenéticas y morfológicas indica que ambos parámetros reflejan rearrreglos celulares fundamentales para la patogénesis y diferenciación celular (36).

Una lista de las anomalías cromosómicas primarias reconocidas en LMA se presenta en la tabla VIII. En 55% de los casos de LMA uno de estos rearrreglos es encontrado como aberración primaria y único cambio citogenético detectable. Pero en 45% de los pacientes, estas anomalías se acompañan de uno o más cambios secundarios. Dos subgrupos del FAB, M3 y M6, tienen porcentajes diferentes a este respecto: en la M3, 80% tienen un sólo rearrreglo cromosómico y en la M6, sólo 25% tienen un cambio simple (10, 244, 245).

##### 4.5.1 Alteraciones Numéricas.

La ganancia o pérdida de cromosomas completos es frecuente en LMA como anomalía única al momento del diagnóstico y/o como aberración adicional en estados posteriores. Las hiperdiploidias e hipodiploidias masivas (más de 50 y menos de 45 cromosomas) son raras en LMA y en general se asocian con mal pronóstico (4 y 5 meses respectivamente). Ninguno de los cambios numéricos está restringido a un subtipo particular del FAB, puede presentarse

desde M1 hasta M7. El pronóstico de los pacientes depende de que cromosomas están implicados, pero se consideran dentro del grupo de alto riesgo, excepto la trisomía 21 que se asocia a buen pronóstico. Estos rearrreglos numéricos se presentan en 12% de las LMA. Los cromosomas implicados incluyen +4,-5,-7,+8,+21 y -Y (10,36,176,248).

La trisomía 8 es la alteración numérica más común, se presenta como cambio único en 7% de los casos con anomalías cromosómicas. En las anomalías múltiples sólo se ha tomado en consideración la frecuencia de tetrasomía 8 (5% de los casos de +8) (10,36,245). Esta alteración es específica de desórdenes mieloides, es muy raro encontrarla en leucemias linfoblásticas. Los pacientes con +8 generalmente pasan por una fase preleucémica mielodisplásica antes del desarrollo de LMA. Esta alteración no está restringida a un subgrupo del FAB en particular. Como cambio primario es más común en M1, seguida de M4 y M5. Como aberración secundaria se encuentra con mayor frecuencia en M3, seguida de M1 y M2 (10,36,245).

La trisomía 8 es más común en adultos (248-251). Sin embargo también se ha reportado en niños (252). En éstos, 94% alcanzan remisión completa, mientras que en población adulta, 60% entraron en remisión de dos años (248-252). En el cuarto Taller de Cromosomas en Leucemia reportan que 43% de los casos con trisomía 8 entraron en remisión completa con duración de 8 meses. La supervivencia en estos pacientes va de 6 a 9 meses en adultos (76,245,249,250). Es interesante observar como una misma anomalía 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 los oncogenes c-myc (8q24) y c-mos (8q22) (146).

La pérdida del cromosoma 7 es la segunda anomalía numérica en frecuencia en LMA. También se encuentra en SMD y desórdenes mieloproliferativos crónicos y junto con la monosomía 5 es el cambio más común en leucemias secundarias. Como anomalía única en LMA 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 (10,36,245).

TABLA VIII. ANORMALIDADES CROMOSOMICAS ESTRUCTURALES PRIMARIAS EN LMA (10).

PUNTO DE RUPTURA	REARREGLO	CARAC. HEMATOLOGICAS
1p36 1p11	t(1;3)(p36;q21) t(1;7)(p11;p11)	Dismegacariocitopenia LMAs principalmente M4
2p21	t(2;11)(p21;q23)	-----
3q21-25 3q21 y 3q26	t(3;5)(q21-25;q31-35) ins(3;3)(q26;q21-q26) inv(3)(q21q26) t(3;3)(q21;q26)	Megacariocitos anormales y Trombocitosis
4	trisomia 4	M2 y M4
5 5q	monosomia 5 del(5q)	LMA secundaria LMA secundaria
6p23 6q27	t(6;9)(p23;q34) t(6;11)(q27;q23)	M2 y M4 con basofilia M5, principalmente M5a
7 7q	monosomia 7 del(7q)	LMA secundaria LMA secundaria
8 8p11 8q22	trisomia 8 t(8;16)(p11;p13) t(8;21)(q22;q22)	LMA secundaria M5 con fagocitosis M2 con cuerpos de Auer y eosinofilia
9p21-22 9q 9q34	t(9;11)(p21-22;11q23) del(9q) t(9;22)(q34;q11)	M5 principalmente M5a ----- M1 y M2
10p14	t(10;11)(p14;q13-14)	M4 y M5
11q13-14 11q23	t/del(11)(q13-14) t/del(11)(q23) t(11;17)(q23;q25) t(11;19)(q23;p13)	M4 y M5 M4 y M5 principalmente M5a -----
12p11-13 15q22	t/del(12)(p11-13) t(15;17)(q22;q11-12)	LMA secundaria M3 y M3v
16p13 y 16q22	inv(16)(p13q22) t(16;16)(p13;q22) del(16)(q22)	M4 con eosinofilia "
20q	del(20q)	M6
21	trisomia 21	LMA secundaria
Y	-Y	M2 con t(8;21)

Clinicamente los pacientes con monosomía 7 son más susceptibles a infecciones y fiebre mayor de 39°C. Esto se atribuye a la presencia de neutrofilos con monosomía 7, que tienen defectos funcionales en los granulocitos, principalmente en la función quimiotáctica. Es más frecuente en adultos y en general de mal pronóstico con una sobrevida media de 3 meses. Pocos pacientes (20%) logran entrar en remisión completa con la terapia (76,245,248).

La trisomía 4 ha sido recientemente descrita como cambio primario en LMA. Hay muy pocos casos descritos pero la mayoría corresponden al subtipo M4. Se cree que el rearrreglo neoplásico ocurre en una célula hematopoyética mieloide muy temprana, porque se han encontrado líneas celulares en médula ósea con marcados factores dishematopoyéticos (253,254).

La pérdida del cromosoma Y en células de médula ósea es muy común en adultos de más de 65 años. En la mayoría de los casos se ha aceptado como un evento normal relacionado con la edad y sin significado patogenético aparente (255,256). Sin embargo, la ausencia del Y se ha descrito como una anomalía neoplásica que desaparece en la remisión y reaparece en la recaída. Algunas veces se detecta como única anomalía cromosómica en LMA. La pérdida del cromosoma Y se presenta como cambio secundario particularmente en pacientes con LMA-M2 y t(8;21) como rearrreglo primario (255,256).

De los cambios numéricos mencionados, la trisomía 8 y la monosomía 7 son los únicos que verdaderamente se consideran como eventos primarios. 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 está relacionado con el dosaje génico (10).

#### 4.5.2 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, respuesta a la quimioterapia y sobrevida (257).

Los pacientes que sólo tienen metafases normales (NN) presentan un porcentaje más alto de remisión completa y mayor tiempo de vida; comparado 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 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 quimioterapia (257,258).

Generalmente en LMA las alteraciones cromosómicas están presentes al inicio del padecimiento y desaparecen cuando el paciente entra en remisión. La misma aberración reaparece en la recaída, a veces con cambios cromosómicos adicionales a la clona normal original. Se cree que la aparición de estos cambios cromosómicos secundarios y la inestabilidad cromosómica se incrementan con la edad (76,146,251).

Los rearrreglos estructurales más frecuentes corresponden a translocaciones que pueden presentarse como única anomalía o asociadas a defectos numéricos. Los cromosomas implicados principalmente son 8,16,21,3,11 y 17 (146). A continuación se describen por separado los rearrreglos cromosómicos predominantes en LMA.

A. t(8;21)(q11;q22) en Leucemia Mieloblástica (LMA) con maduración (M2).

En 1968 Kanada y cols. reconocieron un grupo de pacientes con LMA caracterizados por una translocación entre un cromosoma del grupo C y uno del G (259). Rowley lo identificó con la técnica de



bandas Q como una translocación balanceada entre los cromosomas 8 y 21 [t(8;21)(q22;q22)] (260). La aberración se presenta sólo en monocitos y células granulocíticas por lo que se restringe al subgrupo M2 del FAB. Ocasionalmente se asocia con M1 o M4 (244,245).

La t(8;21) es más frecuente en pacientes jóvenes, es raro encontrarla en individuos mayores de 50 años. Es el rearrreglo predominante en la población infantil con LMA, observándose con mayor frecuencia en la población masculina (251). La frecuencia de t(8;21) en pacientes con M2 varía geográficamente. Es más común en Japón (30%) y los Estados Unidos (24%) que en Europa (3%) (248). El Cuarto Taller de Cromosomas en Leucemia reporta una incidencia de 15% en pacientes con M2, que pueda servir como estándar (245).

La presencia de clones con anomalías estructurales en LMA 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 13 meses. Pero cuando este rearrreglo se asocia con la pérdida de cromosomas sexuales es de mal pronóstico y tiene una sobrevida de 5.5 meses (76,245,248,250).

Se han reportado translocaciones variantes a la estándar, análogas a las reportadas en LGC. Algunas son complejas e implican tres cromosomas como la t(2;8;21). Otras aparentemente afectan uno u otro punto de ruptura (8q22;21q22) (261-266). Cambios cromosómicos adicionales se presentan en 80% de los casos, la gran mayoría consiste en pérdida de los cromosomas sexuales, seguida de una deleción intersticial en 9q21-q31 (36,245,246).

El mecanismo molecular asociado con este rearrreglo implica dos oncogenes c-mos (8q22) y c-ets-2 (21q22). Se ha demostrado que el proto-oncogén c-mos permanece en el derivado 8q- y recombina con c-ets-2 que es translocado al cromosoma 8. Se ha especulado que c-ets-2 sea el responsable de la patogénesis de la enfermedad, aunque se desconoce el mecanismo (267-269).

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

La asociación de fibrinógeno bajo y hemorragia temprana en pacientes con LMA fue descrita en 1935 por Risck (270). Hillestad (1957) lo atribuyó a la infiltración de promielocitos en la médula ósea estableciendo el subtipo de Leucemia Promielocítica Aguda (LPA o M3) (270). Golomby y cols. (1976) fueron los primeros en asociar una anomalía cromosómica con este subgrupo. La describieron como una delección parcial del cromosoma 17 (270). La naturaleza exacta de la anomalía fue determinada por Rowley y cols. (1977), quienes la identificaron como una translocación recíproca (15q+;17q-)(271,272). Esta anomalía fue confirmada por numerosos grupos y actualmente la t(15;17)(q22;q11) es específica de LPA (273).

La incidencia de t(15;17) en las diferentes series de pacientes con LPA varía considerablemente. Esto puede ser reflejo de las diferentes técnicas citogenéticas empleadas. Berger y cols. (1983) han sugerido que en preparaciones directas la división celular implica principalmente eritroblastos, mientras que en los cultivos son mieloblastos (274). La alta frecuencia de este rearrreglo después de un cultivo de corto tiempo es indicativo de que la translocación está presente en células mieloides pero no en células eritroides, por ello se prefieren los cultivos en LPA (274).

En el Segundo Taller de Cromosomas en Leucemias 41% de los pacientes con LPA (80 casos) presentaban la t(15;17) sola o combinada con otras alteraciones. De estos 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 media de 4 meses (246).

En el Cuarto Taller efectuado 3 años después, se encontró que 70% de los pacientes con LPA presentaban la translocación. De estos, 42% entró en remisión completa con duración de 10 meses y una sobrevida de 13 meses (245). Larson y cols (1984), encontraron el rearrreglo en el 100% de sus pacientes con LPA independientemente del tipo de M3 (275). El grupo del MIC reporta que 90% de los casos de M3 o M3v presentan la translocación (36). En ambos casos el pronóstico de los pacientes es pobre, con una sobrevida de 2-4

meses (36,275).

Estos datos remarcan la especificidad de la t(15;17) y su pronóstico en la neoplasia promielocítica. Sin embargo hay un reporte de LGC en fase blástica que presenta la translocación como aberración secundaria. Los pacientes presentaban manifestaciones clínicas indistinguibles de la LPA. Aparte de esos casos excepcionales de LGC ningún otro tipo de leucemia presenta este rearrreglo (276).

La localización de los puntos de ruptura exactos en la translocación ha causado controversias. Diferentes investigadores propusieron las bandas q22, q24, q25 y q26 del cromosoma 15 y q12, q24, q25 y q26 del cromosoma 17 (246,273). Esta discrepancia se debe a que las regiones críticas de los cromosomas 15 y 17 tienen un patrón de bandeado semejante (claro) y frecuentemente son de mala calidad morfológica. Los puntos de ruptura propuestos en el Cuarto Taller por técnicas de alta resolución y bandas R, Q y Q son 15q22 y 17q12-21 (245). Según Yunis y Mitelman corresponden a las sub-bandas 15q22.3 y 17q11.2 (76,277). Sin embargo, Kaneko propone el sitio de ruptura en 17q21.1, este último fue confirmado al determinar que no hay cambio en el oncogén c-erb-B2, por técnicas de hibridización en células somáticas derivadas de un paciente con M3. En general en todos los reportes los puntos de ruptura corresponden a regiones pericentroméricas (245,278).

Las translocaciones variantes son raras en LPA sólo 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 un tercio de los pacientes predominando la trisomía 8 (36,245).

El mecanismo molecular propuesto para este rearrreglo implica oncogenes celulares y sitios frágiles en 17q. El oncogén c-erb-A (17q21-q22) no se transloca al cromosoma 15 sino que permanece en el derivado 17q- cerca de un sitio frágil (17q21) (279-280).

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

La asociación entre cambios estructurales del cromosoma 16q y eosinofilia en médula ósea fue reportada por Arthur y Bloomfield en 1983 (281). 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 tuvieron una delección del brazo largo del cromosoma 16 [del(16)(q22)] (281). Le Beau y cols (1983), no sólo confirmaron estos datos sino que también asociaron los rearrreglos en 16q con la presencia de eosinófilos anormales (282). En su reporte 18 pacientes con diferenciación mielomonocítica (M4) y eosinofilia, presentaron una inversión pericéntrica del cromosoma 16, [inv(16)(p13q22)] (282).

La correlación entre los eosinófilos anormales y los rearrreglos estructurales del cromosoma 16 fue confirmada en el Cuarto Taller de Cromosomas en Leucemia (TICL) al encontrarlos en 40% de los pacientes con M4 con más de 5% de eosinófilos (245). A partir de aquí surge un nuevo subgrupo específico de LMA ya que el punto de ruptura es el mismo en las delecciones e inversiones (16q22). Esto sugiere que la existencia de un punto crítico en los rearrreglos del cromosoma 16 (281,282).

Recientemente otros autores han reportado translocaciones variantes que implican la banda 16q22 y otros segmentos del cromosoma como 16p13 (283). Sin embargo la inv(16)(p13q22) sigue siendo el rearrreglo más común asociado a M4. Constituye 5% de todos los casos de LMA citogenéticamente anormales (245). Se consideran anormalidades variantes la del(16)(q22), la t(16;16)(p13;q22) y las translocaciones entre 16q22 y otros cromosomas. Como cambio cromosómico adicional a estos rearrreglos, sólo se ha reportado trisomía 8 (36,245). La presencia de rearrreglos variantes es paralela a lo que ocurre en la t(9;22), t(8;21) y t(15;17) (10,76).

La especificidad de la asociación morfo-citogenética para LMA-M4 del FAB ha permitido crear un nuevo subgrupo: LMA-M4RO/inv(16), que tiene una incidencia de 20% en los casos de M4 (10,36). Este subtipo presenta factores morfológicos característicos. Tales

como un incremento de eosinófilos inmaduros con granulaciones citoplásmicas más grandes, más numerosas y más irregulares que en los eosinófilos inmaduros normales. En algunas células la morfología es más característica de la línea monocítica y da la impresión de que las células representan un híbrido entre eosinófilos y monocitos. Algunos de los núcleos son hiposegmentados. La morfología anormal de los eosinófilos se confirma con las reacciones citoquímicas PAS y estearasa y por microscopía electrónica (281-283).

Testa y cols sugieren que la transformación maligna puede ocurrir en una célula madre multipotencial capaz de diferenciar hacia 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 (284)

Los pacientes con aneasias 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 (36,76).

El mecanismo molecular relacionado con este rearrreglo ha sido estudiado por LeBeau y col (1985) (285). Utilizando técnicas de hibridización *in situ*, encontraron que la familia de genes para la metalotionina (MT) se localizaba en 16q22. La función de estos genes es la de 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 (285). Cualquiera que sea el rearrreglo en 16q22 interfiere con las funciones normales de los genes de MT desencadenando el proceso leucémico (10,285).

Alternativamente se ha propuesto la activación de un gen ligado a funciones oncogénicas, para los puntos de ruptura del cromosoma 16. Este podría estar localizado en 16p13 y regular las funciones de transcripción normal de los genes MT. Hipotéticamente se ha propuesto que estos genes, en el rearrreglo, alteran sus funciones activando oncogenes que ocasionan el desarrollo de la leucemia (10,285).

D. t(6;9)(p23;q34) y Basofilia de Médula Ósea.

Simultáneamente varios autores describieron una t(6;9) en pacientes con LMA asociada con un incremento en el número de basófilos en médula ósea (286-289). Posteriormente Pearson y cols (1985), reportaron 9 casos con este rearrreglo y basofilia en médula ósea (>1%) (290). Estos datos fueron reexaminados y de los 20 pacientes estudiados 19 presentaban la t(6;9) y uno tenía una translocación compleja (6;6;9) que se consideró 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 rearrreglo cromosómico (286-290). Existen otras anomalías citogenéticas en LMA que también se asocian con basofilia, tal es el caso de las alteraciones estructurales que implican del(12p) (291).

La t(6;9) no está limitada a un subgrupo del FAB en particular, pero preferencialmente se presenta en M2 y en menor proporción en M4 y M1. Cuando se presenta en M2 se detectan numerosos cuerpos de Auer. También se ha observado este rearrreglo en LGC Ph-, otra entidad asociada con aumento de basófilos en médula ósea (36,76,290). Este rearrreglo se presenta en pacientes jóvenes de 20-38 años que no tienen una buena respuesta a la terapia, por lo que su pronóstico es malo (sobrevive 8-10 meses). Aproximadamente 20% de los pacientes pasan por una fase mielodisplásica previa al desarrollo de la leucemia (36,76,257,389).

En todos 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 (286-290). Recientemente Heis y cols (1986) por técnicas de alta resolución determinaron que el punto de ruptura en 6p está próximo a 6p24 (en la parte distal de 6p23). Así también en el cromosoma 9 determinaron la ruptura en la sub-banda 9q34.3 (292).

El punto de ruptura en 9q es el mismo que el de la t(9;22) de la LGC que también se asocia con basofilia, lo cual sugiere que la ruptura en 9q34 podría alterar la función de un gen crítico

relacionado con la producción de basófilos (76). Sin embargo hay algunos datos que lo descartan. Por técnicas de alta resolución se observó que en LGC la ruptura ocurre en 9q34.1, mientras que en la t(6;9) la ruptura es en 9q34.3. Se ha demostrado que en la t(6;9) el c-abl permanece en el derivado del 9, no se transloca al cromosoma 6. Además en este rearrreglo la proteína de c-abl aparece en cantidades normales y su actividad de cinasa de tirosina, *in vitro*, no se incrementa como en las LGC's. En consecuencia el c-abl no participa en la t(6;9) como lo hace en LGC Ph<sup>+</sup> (293).

Recientemente se ha mapeado el oncogén *plc-1* en el brazo corto del cromosoma 6 (6p21) (294). Este oncogén es el homólogo humano del oncogén murino frecuentemente activado en linfomas de células-T en ratón. La proximidad del punto de ruptura en la t(6;9) con este oncogén indica que es factible que se transloque a 9q34 ocasionando la alteración molecular (294).

#### **E. Rearreglos en 3q y Trombocitopóyesis Anormal.**

En pacientes con LMA es rara la presencia de trombocitosis y cuentas anormales de plaquetas. Sin embargo, ha surgido un subgrupo citogenético que tiene alteraciones estructurales en 3q asociadas con estos parámetros (10,36). Una inversión paracéntrica del brazo largo del cromosoma 3 [inv(3)(q21q26)] fue reportada por Bernstein y cols (1982). Todos los pacientes tenían LMA y presentaron anomalías megacariocíticas y de plaquetas (295). Sweet y cols, reportan un paciente con megacariocitopóyesis anormal y t(3;3)(q21;q26) (296). Reportes posteriores han confirmado la asociación entre la inv(3)(q21q26) y/o t(3;3)(q21;q26) con neoplasias mieloides y producción anormal de plaquetas. También se han reportado otros rearrreglos que implican 3q como una ins(3;5) y una ins(3;3)(q26;q21;q26) que posteriormente se han reinterpretado como translocaciones (3;5) y (3;3) respectivamente (296,297).

Los pacientes con estos rearrreglos presentan un número elevado de plaquetas y anomalías muy marcadas en la megacariopóyesis. El número de megacariocitos en médula ósea se incrementa y son

morfológicamente anormales (micromegacariocitos) y con núcleos hipolobulados. La apariencia de la médula ósea es similar a la descrita en el síndrome 5q- (297,319). En otro reporte de un paciente con Anemia Sideroblástica Idiopática Adquirida se observaron rearrreglos simultáneos como una  $ins(3;3)(q26;q21q26)$  asociada con trombocitosis (298). En este caso la médula ósea se ve afectada en tres líneas: mielóide, eritroide y megacariocítica, indicando que el evento patogénico esencial ocurrió en una célula del sistema hematopoyético pluripotencial capaz de diferenciarse hacia esas líneas (298).

Los rearrreglos en 3q también han sido reportados en LMA secundarias e idiopáticas, síndromes mielodisplásicos y LOC Ph-. Sin embargo, en LMA y SMD no se restringe a un subgrupo específico, pero en LOC la  $inv(3)(q21q26)$  sólo se presenta en la fase blástica con desarrollo de trombocitosis al igual que anomalías morfológicas en megacariocitos y plaquetas (299;300). Recientemente se ha reportado una  $t(1;3)(p36;q21)$  que constituye una variante de los rearrreglos clásicos [ $inv(3)$  y  $t(3;3)$ ] (301). Los primeros 3 casos reportados con este rearrreglo eran SMD que evolucionaron a una LMA. Otros casos fueron diagnosticados como LMA pero todos presentaron un estado MD previo (302-304). En estos pacientes se observaron anomalías en tres líneas (megacariocítica, eritroide y granulocítica) y marcada dismegacariocitopoyesis. Estos casos con  $t(1;3)$ ,  $inv(3)$  y  $t(3;3)$  han sido difíciles de clasificar en algún grupo específico del FAB por lo que se han asociado a SMD y LMA por igual (10,301).

El mecanismo molecular implicado en la  $inv(3)$  y  $t(3;3)$  está relacionado con la presencia de genes específicos en o cerca de los puntos de ruptura en 3q21 y 3q26. En estas bandas se localizan los genes que codifican para la transferrina y para su receptor, respectivamente. (305,306). Se observó que los pacientes con LMA y estos rearrreglos presentaban niveles elevados de trombopoyetina. Por lo que se postuló que en 3q se encontraba un gen que activa su producción. Los niveles altos de trombopoyetina (TSP) son causados por dos mecanismos: que las plaquetas pierdan su capacidad de reconocer el sistema de síntesis de TSP, ocasionando un control negativo de la producción o que las células leucémicas puedan sintetizar TSP pero que esté alterada su regulación por un mecanismo autocrino. Sin embargo,



no se ha probado que alguno de estos mecanismos sea el responsable del proceso leucémico (307).

#### F. Leucemia Monoblástica Aguda con Rearreglos Estructurales en 11q.

Las alteraciones estructurales en 11q son relativamente comunes en la Leucemia Monocítica Aguda M5, sobretudo en el tipo "a" o leucemia monoblástica, la cual es más frecuente en niños que en adultos. Su incidencia en M5 tipo "b" o leucemia monocítica bien diferenciada es baja en niños y prácticamente nula en adultos (73,146). 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 (245).

En el Cuarto TICL se reportaron aberraciones en 11q principalmente en pacientes con M5 tipo "a". Sin embargo también se encontraron estas aberraciones en pacientes con M4 y M2 (245). Aproximadamente 22% de los pacientes con M5 presentan una aberración implicando 11q (245). También se han registrado casos de M1, M4 y M6 con una t(2;11)(p21;q23) (308) y casos de M4 altamente indiferenciada con una t(4;11)(q21;q23) que previamente se habían diagnosticado como LLA, debido a que dicha translocación afecta probablemente una célula madre pluripotencial (146). Recientemente se reportó una translocación que implica al brazo corto del cromosoma 11, t(7;11)(p15;p15) predominantemente en LMA-M2. Ocasionalmente se encuentra en otros subtipos de LMA y LGC con o sin cromosoma Ph'. Es frecuente que se presente como única anomalía. Los pacientes se caracterizan por baja reacción de fosfatasa alcalina de neutrófilos y presencia de bastones de Auer en sus células (309). Otras translocaciones reportadas son t(1;11)(p32;q23), t(11;19)(q23;p13), t(10;11)(p11-p13;q23) y t(11;17)(q23;q21-25) (310).

De todos los rearrreglos en LMA que implican 11q el que mejor se ha estudiado, por la cantidad de casos reportados, es la t(9;11)

en M5 (311). La frecuencia actual del rearrreglo es incierta pero se supone de 1% en los casos de LMA citogenéticamente anormales. Como el fragmento translocado es muy pequeño y con un patrón de bandeado similar es frecuente que pase desapercibido o sea difícil determinar los cromosomas implicados (311).

Existe controversia en los puntos de ruptura en el cromosoma 11, algunos autores manejan 11q23-24 y otros 11q13-14. La importancia biológica de una u otra posición se desconoce, sin embargo, 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 es dependiente de la edad (312).

Los cambios estructurales en 11q no son exclusivos de LMA-M5a. También se ha observado del(11)(q22q24) en LGC Ph+ en fase blástica, como cambio secundario asociado con diferenciación monoblástica (313). Las LLA con t(11;14) o t(4;11) exhiben factores mieloides y linfoides sugestivos de un fenotipo bilineal. También en Sarcoma de Ewing se reportan rearrreglos en 11q [t(11;22)] (10,76).

Dado que la mayoría de los rearrreglos en 11q implican la banda q23 se ha sugerido la existencia de genes importantes para la diferenciación mielomonocítica en esa zona. El oncogén c-ets-1 se ha separado en esta banda. En pacientes con LMA-M5 y t(1;11), éste se transloca al derivado del 1. En la t(9;11) el oncogén es translocado a 9p22 en una posición adyacente a los genes que codifican para interferon. Se ha sugerido que la yuxtaposición de estas secuencias es importante para la patogénesis de la M5 (314,315).

El pronóstico de los pacientes con estas alteraciones es variable y depende de que cromosomas están relacionados con el rearrreglo. Se consideran de alto riesgo los que presentan t(9;11), t(11;17) y t(10;11) ya que no entran en remisión con la terapia convencional y tienen una supervivencia de un mes en adultos. Los otros rearrreglos de 11q se asocian con un pronóstico intermedio, la mayoría de los pacientes entra en remisión completa en corto tiempo y tienen una supervivencia promedio de 9 meses (249,310).

## G. 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 está la  $t(1;7)$  que se presenta en pacientes con SMD que evolucionan a una LMA, aunque también se presenta en LMA de UVQ (316). Esta anomalía se asocia principalmente con una morfología M4 y a menudo se presenta acompañada por otros rearrreglos como monosomía total o parcial de los cromosomas 5, 7 y 12p. La mayoría de estos pacientes han tenido una exposición previa a sustancias tóxicas (10,316).

Aproximadamente 3% de todos los pacientes con LMA presentan cromosoma Ph' como único rearrreglo, citogenéticamente indistinguible de la  $t(9;22)(q34;q11)$  específica de LGC. Esta translocación no se restringe a un subtipo de LMA, sin embargo 85% de los casos con Ph' se han clasificado como M1 o M2. En algunos casos las células leucémicas presentan tanto factores mieloides como linfoides, lo que indica que el rearrreglo ocurre en una célula muy primitiva. Las leucemias agudas Ph+ tanto linfoblástica como mieloblástica comparten características morfológicas y citoquímicas específicas que permiten diferenciarlas de otras leucemias agudas (213,317).

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 la mitad fueron diagnosticados como eritroleucemia (M6). Esta anomalía se ha asociado a otros desórdenes hematológicos como SMD y específicamente a policitemia vera (10).

La del(9q) e i(17q) son cambios estructurales que se van con frecuencia como rearrreglos secundarios en varios desórdenes hematológicos. Estos rearrreglos sólo ocasionalmente han sido encontrados como anomalía primaria en LMA, sin que presenten predilección por un subtipo determinado (10).

La  $t(8;16)(p11;p13)$  se ha presentado en varios subtipos de LMA, recientemente se reportaron cuatro pacientes con morfología M5 y

el rearrreglo (318). 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 decidió clasificar este rearrreglo como específico de M5b y eritrofagocitosis (36,318).

La presencia de cromosomas en anillo es rara en LMA, sin embargo, se han reportado preferencialmente en M4 asociadas con mal pronóstico, con una sobrevida de 5-6 meses. Los casos reportados presentaban anillos de cromosomas del grupo A (324).

#### H. Leucemia Mieloblástica Aguda como una Enfermedad Secundaria.

Como ya se mencionó anteriormente (capítulo III), 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 1 a 2% de estos pacientes quienes desarrollan LMA, 3 a 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 total o parcial 5 o 7 y trisomía 8 (76,146,115,319).

Recientemente se ha reportado que el cariotipo puede asociarse con el tipo de cáncer original, monosomías 5 y 7 y trisomía 8 se asocian con malignidades hematológicas previas. Los rearrreglos específicos de LMA y del(5q) corresponden a tumores sólidos previos (320). También es posible relacionar el cariotipo con la terapia recibida, así, -5, -7 y del(7q) se asocian con quimioterapia y la del (5q), rearrreglos específicos de LMA, otros cambios estructurales y cariotipo normal con radioterapia (319,320).

El estudio citogenético sirve como indicador de remisión completa. Pacientes con del(5q) y -5 presentan el porcentaje más bajo de remisión. Otros rearrreglos estructurales incluyendo los específicos para LMA corresponden al porcentaje mayor. Los

pacientes que desarrollan LMAs muestran una anomalía cromosómica clonal detectada en 89-95% de los casos con las técnicas comunes y en 100% con técnicas de alta resolución. Estas leucemias secundarias no pueden clasificarse por el sistema del FAB (76,319,320).

La relación citogenética-morfología hasta aquí presentada, demuestra que los estudios cromosómicos son útiles para establecer un diagnóstico y pronóstico más certeros. Sin embargo, siempre deben complementarse con otros estudios en especial los casos de aberraciones compartidas por leucemias mieloides y linfoides. El método primario actual para la clasificación de leucemias planeado por el FAB, sólo puede identificar diferencias pronósticas generales, pero existe una considerable variación individual en remisión y supervivencia entre los diferentes subtipos del FAB. Es por ello que una clasificación del tipo MIC que relaciona la citogenética con la morfología, inmunología y pronóstico sería ideal para las leucemias en general (10,36,73,76).

## CAPITULO 5.

### MATERIAL Y METODOS.

#### 5.1 Material Biológico.

Para la elaboración de esta tesis se seleccionaron 24 casos de las muestras de pacientes con Leucemia Aguda recibidas en el Servicio de Genética del Hospital General de México S.Sa., entre 1987-1989.

Se trabajó con muestras de médula ósea y/o sangre periférica de cada paciente. Las muestras de médula ósea se procesaron mediante la técnica de Mozier y Linquist (321) modificada. El cultivo de sangre periférica se realizó por la técnica habitual (132). Todos los casos fueron bandeados con la técnica rutinaria de bandas G (150) y sólo algunos casos con técnica de bandas C (153).

Se analizaron de 15 a 50 mitosis, según lo permitiera la preparación o lo ameritara el caso. Las anomalías cromosómicas fueron descritas de acuerdo a la nomenclatura propuesta en la conferencia de París (147,162,163). Una clona anormal fue definida por la presencia de al menos dos células "pseudodiploides" o hiperdiploides o de tres células hipodiploides exhibiendo la misma alteración. Se consideró presente una clona normal si se observaba al menos una mitosis normal. Las mitosis apropiadas para análisis se examinaron y algunas se fotografiaron con un fotomicroscopio Carl Zeiss Fom III con un aumento de  $10 \times 1.25 \times 100 \times$ .

#### 5.2 Cariotipo en Médula Ósea (321).

1. Agregar 0.5 a 1.0 ml de aspirado de médula ósea heparinizado a un frasco de vidrio o tubo cónico, el cual lleve 10 ml de la siguiente solución: 9 partes de KCl 0.075 M más una parte de solución de tripsina-EDTA al 0.25% más colchicina a una concentración final de 0.08  $\mu$ 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 aproximadamente).

5. Las preparaciones se hacen goteando la suspensión de células a una altura de 1.50 m sobre 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.

### 5.3 Cariotipo en Linfocitos de Sangre Periférica (132).

1. Las muestras de sangre se toman en condiciones estériles en jeringa heparinizada.

2. Colocar 0.5 ml de sangre en 4.5ml de medio de cultivo (McCoy 5a) suplementado con suero fetal de ternera (0.5ml) y antibióticos (penicilina 2,000U/ml + estreptomicina 275mg/ml). Las muestras se trabajan por duplicado adicionando sólo a uno de los frascos el mitógeno (fitohemaglutinina PHA).

3. Incubar a 37°C durante 70.5 hrs. Adicionar 0.5ml 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 5ml de fijador. Repetir esta operación cuantas veces sea necesario para 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 10-15 cm. Dejar secar al aire.

9. Tefir con Giemsa durante 5 min (3ml 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 de fijador. En ocasiones es necesario hacer las laminillas a la flama (sobre portaobjetos 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.

#### 5.4 Bandas G (150).

Las bandas G son consideradas como un tipo de bandeo positivo, son estructuras constituidas por heterocromatins intercalar que comprenden cerca de 50% de las cromátidas. Se reconocen por sus cualidades cromofílicas especialmente para la solución Giemsa, Whright y otros colorantes básicos. Además son relativamente resistentes al tratamiento con calor y a la digestión con enzimas proteolíticas, urea y detergentes (322).



#### A. Técnica:

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 maria a 37°C.

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 con agua corriente y se secan al aire.

Se analizan al microscopio y se seleccionan metafases bien bandeadas para fotografía.

#### B. Solución de tripsina al 1%.

Para su preparación se disuelve un gramo de tripsina en 100ml de amortiguador de fosfatos 0.01 M a pH 6.8 libre de calcio y magnesio (con EDTA al 0.02%). Agitar durante 5 a 6 hrs en agitador magnético. Filtrar y fraccionar en alicuotas pequeñas (5-10 ml) para guardar congelada.

#### C. Solución amortiguadora de fosfatos pH 6.8 (Sorensen).

En un matraz aforado de 1000 ml, se disuelve en agua destilada 6.63g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  más 2.56 g de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , y se afora.

#### 5.5 Bandas C (153).

Las bandas C identifican heterocromatina constitutiva, localizada en el centrómero y regiones pericentroméricas de los cromosomas 1,9,16 y Y. Estas bandas son sumamente resistentes a la extracción con ácidos y bases, tiñen intensamente con Giemsa y otras combinaciones de colorantes (322).

A. Técnica:

1. Colocar las laminillas en HCl 0.2 N por 15 a 30 min.
2. Lavar con agua destilada.
3. Colocar en Ba(OH)<sub>2</sub> (0.065 M) a 37°C por 15 a 30 min.
4. Lavar con agua destilada a 37°C.
5. Colocar las laminillas en 2xSSC (8.82g de citrato de sodio más 17.53 g de NaCl en 1,000 ml de agua destilada) a 60°C durante 2 hrs.
6. Lavar con agua destilada a 60°C y con agua corriente.
7. Teñir con Giemsa (5 ml de Giemsa más 45 ml de buffer de fosfatos pH 6.8).
8. Observar y analizar al microscopio.

clasificaron como LMA-M6. En el caso 23 ocurrió lo contrario llegó como LMA-M2 y finalmente se confirmó como AREB-T. El caso 24 morfológicamente se clasificó como LAL-L2; el resultado de biopsia de hueso y las reacciones citoquímicas correspondieron a una LMA-M1, sin embargo, inmunológicamente se determinó como del subtipo M7, considerándose como el diagnóstico definitivo.

De los 24 casos estudiados ninguno fue citogenéticamente normal, todos presentaron al menos una alteración cromosómica. Sin embargo se detectaron clonas normales en 83% independientemente del tipo de material analizado (médula ósea y/o sangre periférica).

Los rearrreglos estructurales predominan como anomalía primaria sobre los numéricos, tanto en LLA como en LMA (75% y 91.6% respectivamente). Sólo 3 casos (12.5%) no presentaron defectos secundarios y 6 (25%) tuvieron alteraciones numéricas secundarias al rearrreglo primario. El resto de los casos (62.5%) presentaban rearrreglos estructurales y numéricos secundarios.

Las aberraciones cromosómicas representativas se muestran en las fotos 1 - 15.

TABLA IX. DATOS CLINICOS Y HALLAZGOS CITOGENETICOS DE PACIENTES CON LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA.

Diagnóstico inicial (D<sub>i</sub>); diagnóstico final (D<sub>f</sub>); sangre periférica (SP); estimulación con PHA (E); sin estimular (SE); médula ósea (MO); en remisión actualmente (R); entró en remisión y no regresó (R<sup>n</sup>); se desconocen los datos (?).

CASO	EDAD SEXO	D <sub>i</sub> /D <sub>f</sub>	SOBREVIDA TEORICA/REAL	MAT. ANAL	No. CEL ANAL	CARIOTIPO
1	20 M	LLA LLA-B	?/+0m	SPE	28	46,XY 46,XY,t(17;10)(q11;p13) 46,XY,t(17q)(p11;q11) (Foto 1)
2	16 F	LLA-L1 ?	15m/?	SPE	28	46,XX, 46,XX,2q+(q34) 46,XX,-18
3	17 F	LLA-L1 ?	21m/?	SPSE SPE	44	46,XX,0(qh+) 47,XX,0(qh+),+mar 47,XX,0(qh+),4p+(p16) +mar Hiperdiploidia (88-92 cromosomas) (+1,+4,+8, +11,+18,+21)
4	20 M	LLA-L2 LLA-L2	12m/(R) <sup>n</sup>	SPE	25	46,XY 46,XY,t(2;9;22)(q34;q34; q11),21p- 46,XY,t(2;9;??)(q34;q34; q11),+22 (Foto 2)
5	18 M	LLA-L2 LLA-L2	15m/+17m (R) <sup>n</sup>	SPE	30	46,XY 47,XY,+16
6	21 M	LLA-L2 LLA-L2	15m/+19m (R) <sup>n</sup>	SPE	35	46,XY 48,XY,-15 Hiperdiploidia (59 - cromosomas) (+8,+10, +13,+21,+22)
7	19 F	LMA-M5 LLA-L2	?/+17M(R)	SPE	32	46,XX 46,XX,t(6;11)(q26;p16) (Foto 3)

TABLA IX. CONTINUACION...

8	68 F	LLA-L2 LLA-L2	21m/+11m (R)	SPE	20	46,XX 46,XX,t(9;22)(q34;q11) 46,XX,t(9;22)(q34;q11),del(21)(q22) 47,XX,t(9;22)(q34;q11), del(7)(q11.2),+mar Hiperdiploidia (50 cromosomas) (+1,+8,+10,+12,+21) (Foto 4)
9	35 F	LLA-L2 LLA-L2	15m/+17m (R) <sup>a</sup>	MO	44	46,XX 46,XX,t(4;11)(q21;q23) 47,XX,t(4;11)(q21;q23), +mar 48,XX,t(4;11)(q21;q23),+ t(9;22)(q34;q11), del(10)(q26),-3,+8,+10, +13,+21 Hiperdiploidia (47-54 - cromosomas) (+1,+4,+8,+10, +13,+21) (Foto 5)
10	28 M	LLA-L2 LLA-L2	12m/+4m	SPSE SPE	56	46,XY,t(1;7)(p13;q33),16qh+ 46,XY,t(1;7)(p13;q33), t(9;22)(q34;q11),16qh+ 47,XY,t(1;7)(p13;q33),16qh+ t(9;22)(q34;q11),+22. (Foto 6)
11	33 M	LLA-L2 LLA-L2	12.m/?	SPE	30	46,XY,qh+ 46,XY,qh+,t(9;22)(q34;q11) 46,XY,qh+t(9;22)(q34;q11), del(8)(q21) (Foto 4)
12	13 M	LLA-L2 ?	15/?	SPSE SPE	42	46,XY 46,XY,t(3;4)(q24-25;q26) 46,XY,del(8)(q21) 46,XY,t(3;4)(q24-25;q26) del(8)(q21) Hipodiploidia (40-45 cromosomas) (-3,-8,-16,-17,-Y) (Foto 7)

TABLA X. DATOS CLINICOS Y HALLAZGOS CITOGENETICOS DE PACIENTES  
CON LEUCEMIAS MIELOBLASTICA AGUDA.

CASO	EDAD SEXO	Dxd/Dxf	SOBRE- VIDA TEORICA/ REAL	MAT. NO. CEL. ANAL ANAL	CARIOTIPO
13	20 M	LMA-M7 LMA-M1	?/10m	SPE 31 SPSE	46,XY 46,XY,t(8;22)(q34;q11) 46,XY,t(8;22)(q34;q11),t(2;10), (q37;q34) 47,XY,t(8;22)(q34;q11),t(2;10), (q37;q34), +mar Hipodiploidia (43-46 cromosomas) (-18,-19,-20,-X,-Y) (Foto 8)
14	41 F	LAM M1 o M2	3m/4m	MO 15	46,XX,del(8)(q24) 47,XX,del(8)(q24), +22 48,XX,del(8)(q24),-8,+8 48,XX,del(8)(q24),+5,+16 (Foto 9)
15	19 F	LAM-M2	5-18m/7	MO 42	46,XX,t(10;14)(q24;q32) 46,XX,t(10;14)(q24;q32), +mar1 46,XX,t(10;14)(q24;q32), +mar1, +mar2 46,XX,t(10;14)(q24;q32), +1 (17q), +mar1 46,XX,t(10;14)(q24;q32), +1(17q), +mar2 46,XX,t(10;14)(q24;q32),del(2) Hipodiploidia (43-46 cromosomas) (-5,-8,-10) (Foto 3)
16	52 M	LAM-M2 LAM-M2	?/?	MO SP	46,XY 46,XY,t(1;18)(q32;p11.2) 46,XY,t(1;18)(q32;p11.2), del(8)(q13) (Foto 11)

TABLA X CONTINUACION...

17	20 M	LAM-M1 LAM-M2	16m/?	SPE	34	46,XY 46,XX,t(8;21)(q22;q22) (Foto 12)
18	15 M	LAM-M4 LAM-M4	?/+5m	MO SPE	34	46,XY 46,XY,t(2;7)(q21;q22) 46,XY,t(2;7)(q21;q21),del(5)(q34)
19	19 F	LA LMA-M4	5-6m/25d	SPE	57	46,XX 46,XX,t(3)(p28q28) 46,XX,-21 46,XX,-18 47,XX,+22 +mar1, +mar2 (Foto 13)
20	27 F	AA LMA-M8	?/?	MO	29	46,XX 46,XX,t(8;8)(q25;q24) (Foto 14)
21	53 F	LAM-M6 LAM-M6	3m/+6m	MO SPSE	30	46,XX 46,XX,t(3;11)(q27;23) 46,XX,t(3;11)(q27;23),del(7)(q34) (Foto 15)
22	53 F	AREB-T LAM-M8	3m/+6m	MO	32	46,XX 46,XX,t(8;22)(q34;q11) 46,XX,t(8;22)(q34;q11),del(7)(q22) (Foto 4)
23	28 F	LAM-M2 AREB-T	11m/7m	MO	23	46,XX 46,XX,-7
24	16 F	LAL-L2 LAM-M1 LAM-M7	?/+4m	SP	21	46,XX,t(8;22)(q34;q11) 46,XX,t(8;22)(q34;q11),del(7)(q22) Hiperdiploidia (75-85 cromosomas) (+2, +3, +6, +17, +18, +20, +Ph) (Foto 4)

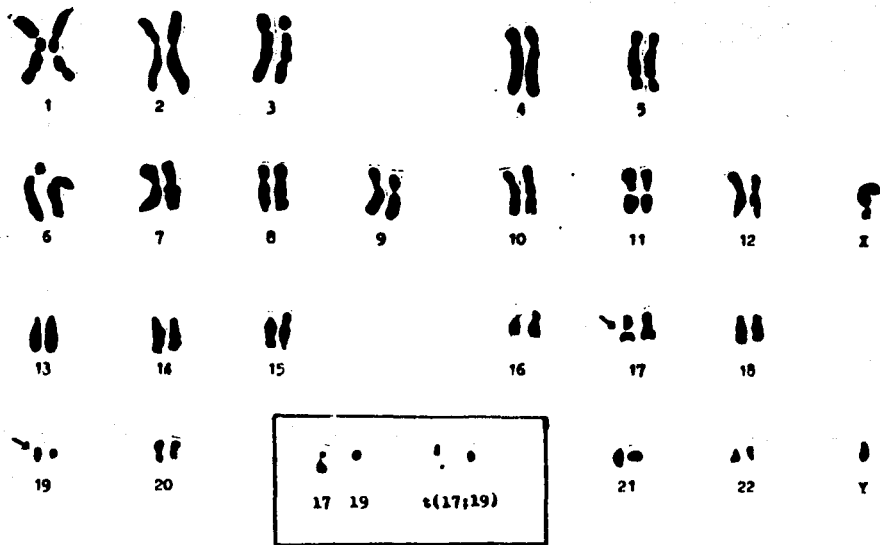
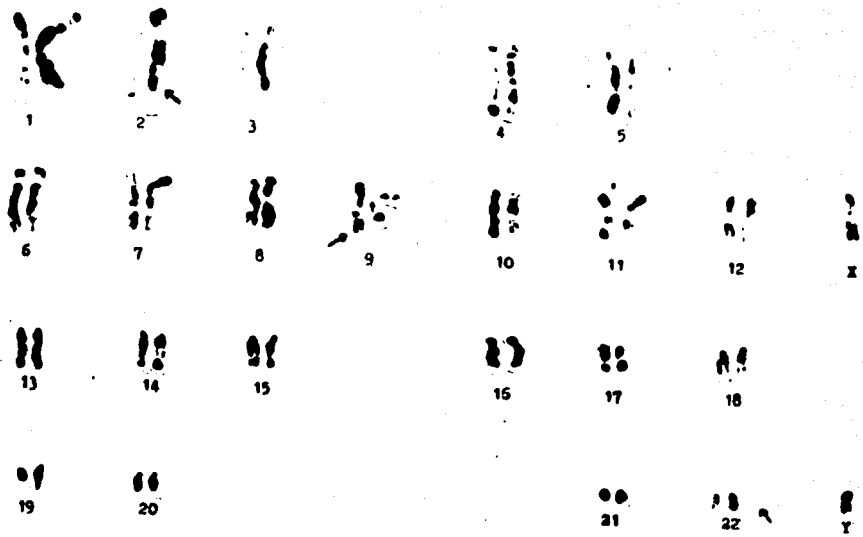


FOTO 1. Cariotipo del caso 1.  $46,XY,t(17;19)(q11;p13)$ . En el recuadro se muestra la translocación de otra metafase.





93

FOTO 2. Cariotipo del Caso 4. 47,XY,t(2;9;22)(q34;q34;q11), +22

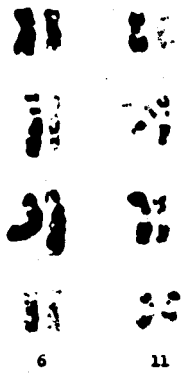


FOTO 3. Cariotipos parciales del Caso 7.  
t(6;11)(q26-27;p13).

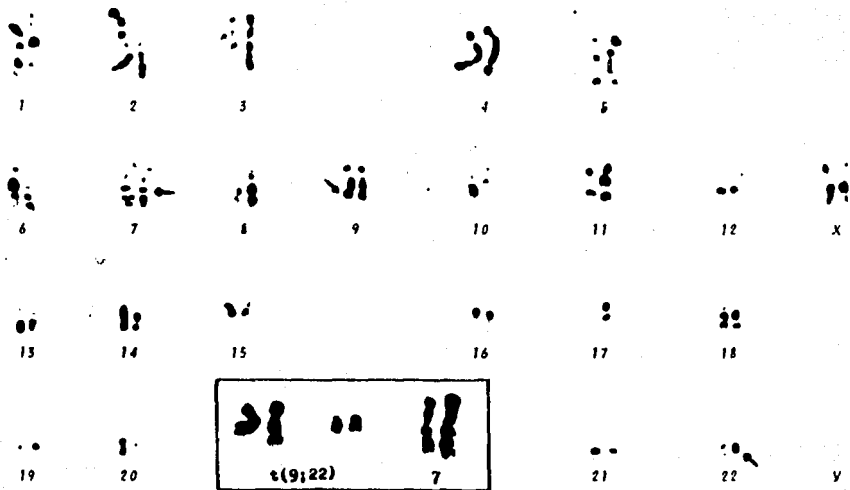


FIGURA 4. Cariotipo con un complemento cromosómico  $46, XX, t(9;22)$  ( $q34;q11$ ),  $del(7)(q11.2)$ . En el recuadro se muestran los cromosomas anormales de otra metafase.

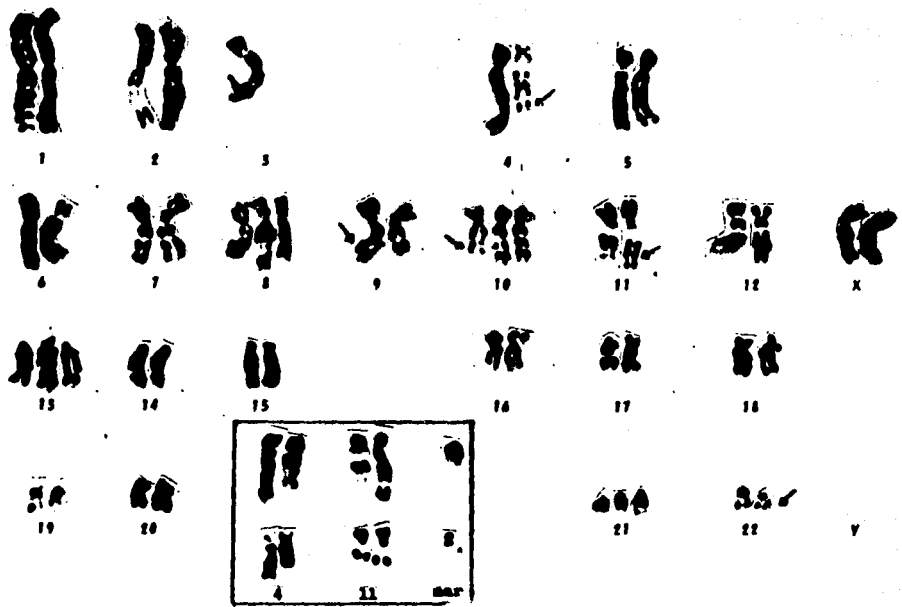
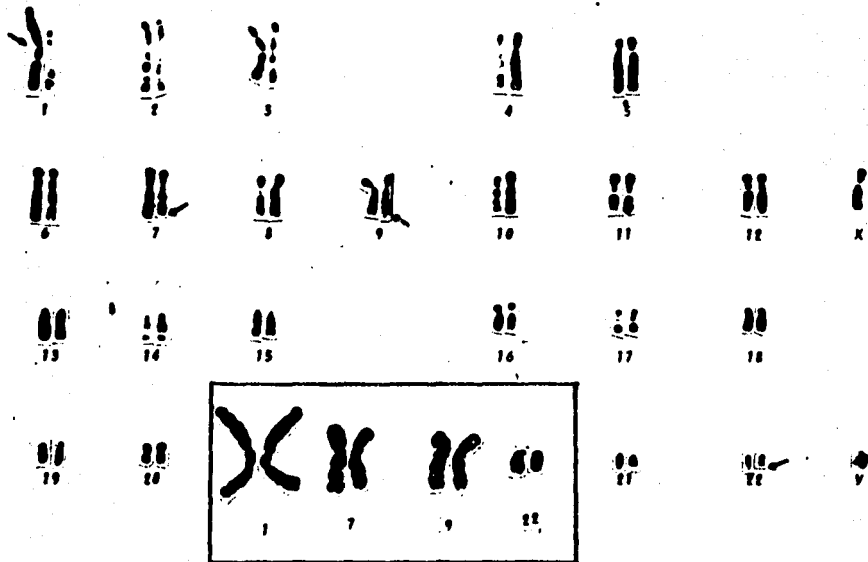
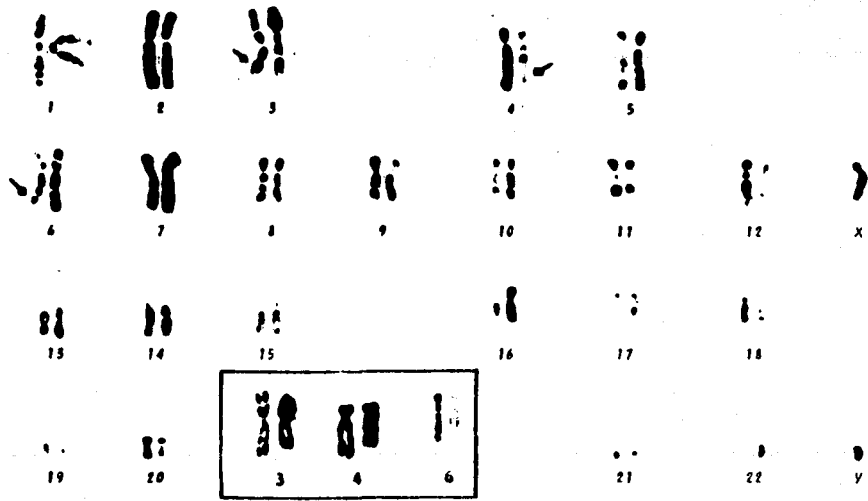

















FOTO 9. Cariotipo del caso 9. 49,XX,t(4;11)(q21;q23),t(9;22)(q34;q11),del(10)(q25),-3,+6,+10,+13,+21. En el recuadro se muestra la t(4;11) y el marcador de otra metafase.



**FIGURA 6.** Cariotipo del caso 10. 46,XY,t(1;7)(p13;q33),16qh+,  
t(9;22)(q34;q11). En el recuadro se muestran los --  
cromosomas anormales de otra metafase.



**FOTO 7.** Cariotipo del caso 12. 40,XY,t(3;4)(q24-25;q20-21), del(6)(q21). En el recuadro se muestran los cromosomas anormales de otra metafase.

2	10	9	22	mar
				
				
				
				

FUO B. Cartosijos parciales del Caso IJ. s(2110)(Q371924),  
s(9122)(Q341911) y sucesoras.

001



foto 9. Cariotipos del caso 14. 40,AA,del(5)(q24),+7,+16,-8.  
En el recuadro se muestran los cromosomas anormales  
de otra metafase.



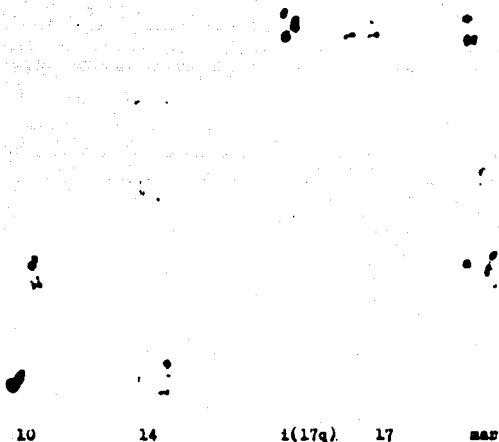
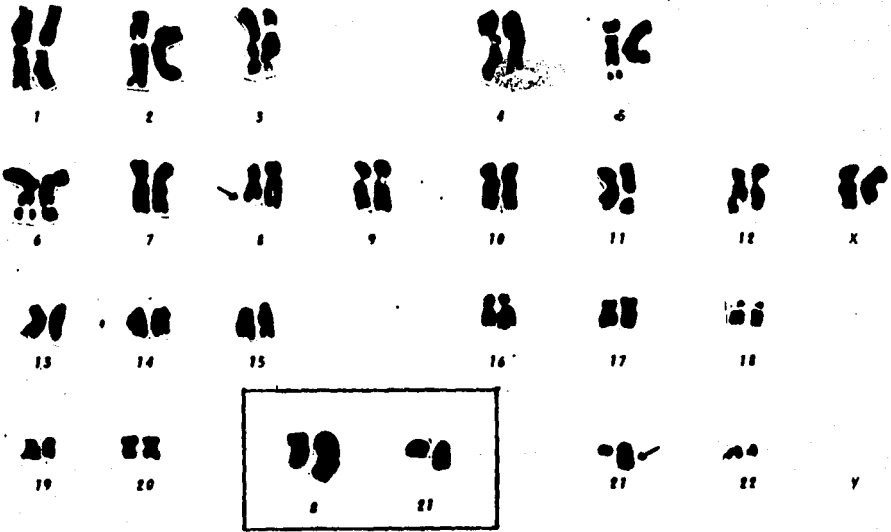


FIGURE 10. Cariotipos parciales del Caso 15. t(10;14)(q24;q34), + i(17q), + marcadores.



**FIGURA 11.** Cariotipo del caso 10. 46,XY,t(1;18)(q12;p11.2), del(5)(q13). En el recuadro se muestran los cromosomas anormales de otra metafase.



FOBO 12. Cariotipo del caso 17. 46,XX,t(8;21)(q22.1;q22.3).  
 En el recuadro se muestra la t(8;21) de otra metafase.

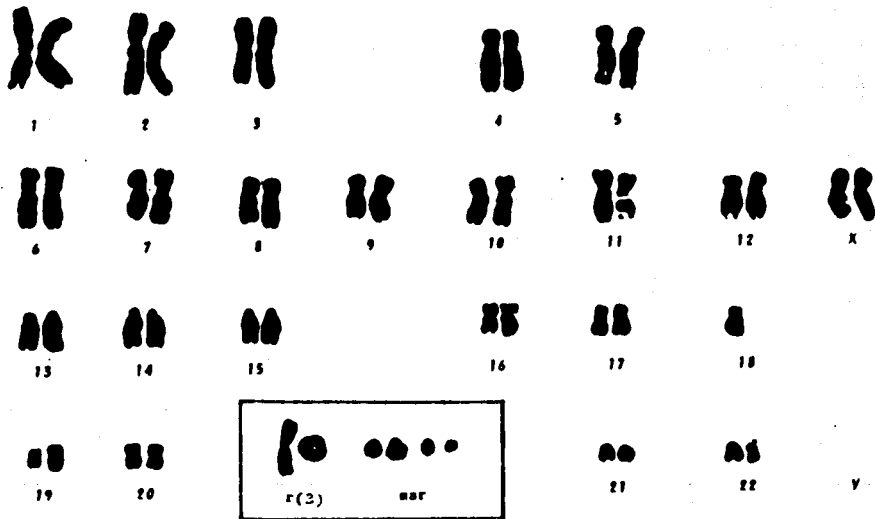


FIGURA 13. Cariotipo del caso 19. 45,X,-18. En el recuadro se muestra un X(3)(p25q28) y marcadores de otra metafase.

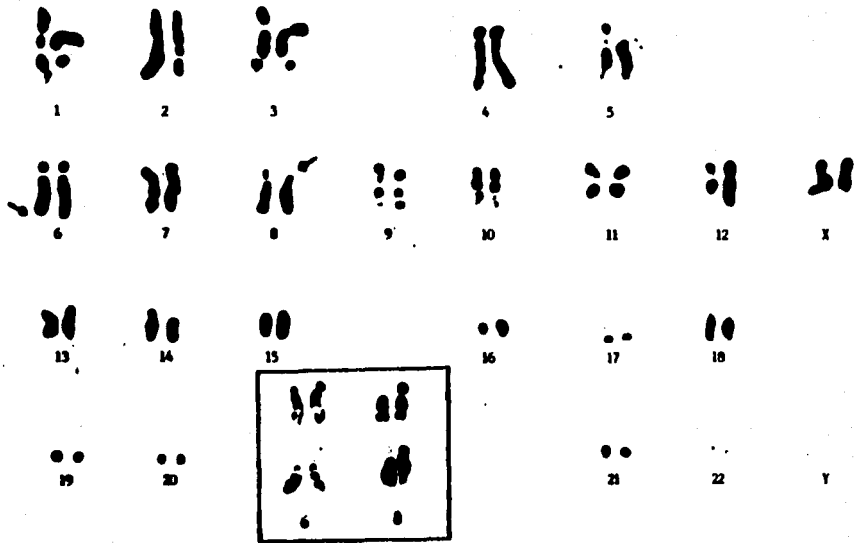


FOTO 14. Cariotipo del paciente 20. 46,XX,t(6;8)(q25;q24). en  
 el recuadro se observa la t(6;8) en otra metafase.

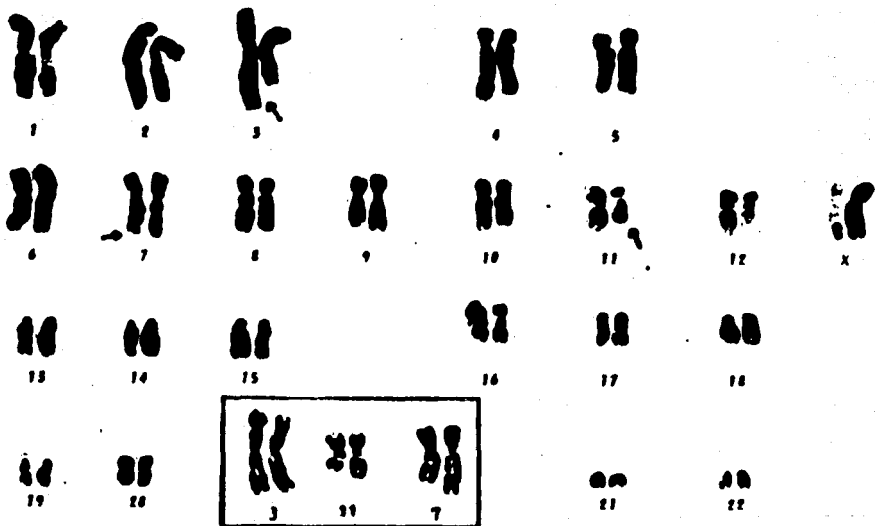


FIGURA 15. Cariotipo del caso 21. 46,XX,t(3;11)(q27;q23),del(7)(q32).  
 En el recuadro se muestran los cromosomas anormales en  
 otra metafase.

## CAPITULO 7.

### D I S C U S I O N .

En nuestros pacientes encontramos una incidencia mayor de ciertos subtipos de leucemias agudas. En las LLA predomina el subtipo L2 (9 de los 12 casos), mientras que en las LMA los subtipos M1 y M2 son los más frecuentes (50% de los casos). Estos datos concuerdan con lo reportado por Larraza y cols (8).

Se observó una mayor incidencia de LMA entre la población femenina (75%), mientras que en LLA predominan los varones (66.6%). Sin embargo, es necesario estudiar un número mayor de casos para generalizar esta relación.

La edad en nuestros pacientes se encuentra en un rango muy amplio (13-68 años). El promedio considerando los 24 casos es de 30 años, observándose predominio de leucemias agudas en adultos jóvenes. En LLA el promedio es de 25 años, mientras que en LMA el promedio es de 30 años. En estas últimas se observó una incidencia mayor de los subtipos M6 y M2 en pacientes mayores de 50 años, aunque se estudiaron muy pocos casos para establecer una relación significativa.

En todos los casos se procesaron muestras de médula ósea y/o sangre periférica, pero sólo en dos casos (16 y 21) se logró analizar ambos. Estos fueron LMA y presentaron las mismas anomalías primarias en médula ósea y sangre periférica, pero en diferente proporción. En sangre periférica predominaron las células cromosómicamente normales (NN) y además se observó una línea con una alteración secundaria que no se presentó en médula ósea. En las preparaciones de médula ósea predominaron las células anormales sobre las normales, sin embargo, la mayoría de estas anomalías no fueron consistentes por lo que pudieran ser producto de la metodología o tratarse de lo que se denomina ruido citogenético.

En las LLA el material analizado en 91.9% de los casos fue sangre periférica con o sin PHA y en 86% de los casos de LMA fue médula ósea. Con estos datos se puede establecer que para las linfoblásticas los mejores resultados se obtienen con cultivos de sangre periférica de 48 a 72 horas; ya que independientemente de la adición de PHA todos los casos presentaron alteraciones cromosómicas. En las mieloblásticas la correlación no es tan clara, pero siempre es recomendable trabajar con ambas metodologías y comparar resultados.

En el análisis citogenético se encontró en todos los casos la presencia de clones anormales. Esto contrasta con los reportes de la literatura en donde únicamente 50-70% de los pacientes con leucemia aguda tienen defectos cromosómicos por técnicas estándar. Sin embargo, el tamaño de la muestra es relativamente pequeño. En 20 de los casos se presentaron aberraciones secundarias tanto numéricas como estructurales. De los 4 casos que tuvieron únicamente anomalías primarias sólo uno presentó una anomalía numérica, en los otros la alteración primaria fue estructural.

#### 7.1 Leucemia Linfoblástica Aguda (Tabla IX).

La ganancia o pérdida de cromosomas en LLA como única anomalía es rara, sólo se presenta en 4% de los casos. De nuestros pacientes uno (83%) (caso 5) presentó trisomía 16 aislada. Además se encuentran monosomías 15 y 18 (casos 2 y 6) asociadas con hiperdiploidía. Estos pacientes entraron en remisión y tuvieron una supervivencia superior a la reportada para una alteración numérica.

La hiperdiploidía se presentó como anomalía secundaria principalmente asociada a un rearrreglo estructural primario. De los 5 paciente con hiperdiploidía, 4 tenían el subtipo L2, lo que contrasta con los reportes de la literatura en donde predomina en L1 (76,146,168,169,178). Se sabe que tres de estos pacientes se encuentran en remisión (casos 6, 8 y 9) y de los otros dos (casos 3 y 11) se desconocen los datos. Lo cual estaría de acuerdo con el pronóstico favorable para la hiperdiploidía independientemente



de la anormalidad primaria (10,76).

Entre las alteraciones estructurales en LLA se encontró cromosoma Ph' en 5 pacientes (foto 4). Todos ellos producto de t(9;22) a excepción de uno (caso 8) que muestra una translocación no usual (2;9;22)(q34;q34;q11) (foto 2), la cual es rara aun en LGC (75). En tres casos se presentó como defecto primario (casos 4, 8 y 12) y en éstos se presentaron además otras alteraciones numéricas y estructurales como defectos secundarios. Dos de ellos (casos 4 y 8) permanecen en remisión completa, contrariamente a lo esperado para el rearrreglo cromosómico que presentan (75,76).

La t(9;22)(q34;q11) como defecto secundario se encuentra en los casos 9 y 10 donde el rearrreglo primario es una translocación (4;11)(q21;q23) y (1;7)(p13;q33) respectivamente (fotos 5 y 6). Estas tres translocaciones se asocian con muy mal pronóstico (10,76,168,169,178). Sin embargo, estos pacientes entraron en remisión por más de 7 meses, lo que podría explicarse, en el caso 9, por la presencia de hiperdiploidía.

Recientemente se ha reportado en LLA una translocación (17;19) no usual que implica las regiones 17(q11) y 19(q13) ó 19(p13) en 6 pacientes con L1; los cuales tardaron más de 13 meses en entrar en remisión (323). Por analogía con la t(1;19)(q23;p13) se ha determinado que la ruptura ocurre en 19(p13) (10,76). En el caso 1, con LLA de células-B se presenta este rearrreglo (foto 1) y además i(17q) como cambio secundario a la translocación. La sobrevida de este paciente se desconoce y únicamente sabemos que tardó más de 6 meses en alcanzar la remisión completa.

Implicando al cromosoma 6 se reporta una translocación (6;11)(q26-27;p15) (caso 7) no descrita (foto 3). Es interesante señalar que los puntos de ruptura de este rearrreglo se asocian con otras neoplasias hematológicas como LMA y linfomas (10,76). Este paciente fue diagnosticado inicialmente como LMA-M5 y posteriormente se le asignó el diagnóstico de LAL-L2 en base a los criterios del FAB.

Por otra parte se reporta que la del(6q) como rearrreglo

secundario ocurre con mayor frecuencia en el subtipo L2, en niños y adolescentes (10,185,226). Y se encontró en dos pacientes (casos 11 y 12) como rearreglo secundario a una translocación, ambos con morfología L2 y edad de 13 y 33 años respectivamente. Se desconocen los datos de supervivencia de estos pacientes, pero, podemos inferir que tienen un pronóstico intermedio ya que la del(6q) es de buen pronóstico (168,169,173), compensando el mal pronóstico de las translocaciones primarias.

Como anormalidades primarias se encontraron una t(1;7)(p13;q33) (caso 10) y una t(3;4)(p13;q33) (caso 11), que no habían sido reportadas en la literatura (fotos 6 y 7). Sin embargo, los puntos de ruptura en los cromosomas 3 y 7 coinciden con rearreglos en LMA, aunque las alteraciones secundarias se restringen a LLA. En el primero las alteraciones secundarias son del(6q) e hipodiploidía que se presenta sólo en niños entre 2 y 10 años con subtipo L2 (10,174). El segundo caso además de la t(1;7) presenta Ph' y líneas con un cromosoma 22 adicional. Por el tipo de rearreglos se esperaría un pronóstico desfavorable, no obstante el paciente llevaba más de 5 meses en remisión completa.

En varios casos de LLA se observaron polimorfismos cromosómicos [caso 12 (1qh+); caso 3 (9qh+); caso 10 (16qh+) y caso 4 (21p-)]. Aun cuando se desconoce la participación de estas regiones en el desarrollo de neoplasias parecería que facilitan el intercambio cromosómico por entrecruzamientos desiguales lo que produciría homo o hemigocidad de genes implicados en la aparición del cáncer (161).

## 7.2 Leucemia Mieloblástica Aguda (Tabla X).

La presencia de células citogenéticamente normales se considera un indicador pronóstico favorable en LMA. Se ha propuesto la necesidad de una clona normal para repoblar la médula ósea una vez que las células leucémicas han sido eliminadas por la quimioterapia (257,258). Por lo anterior esperaríamos un pronóstico desfavorable para los pacientes sin clona normal (casos 13, 14 y 24). Sin embargo no es posible establecer una comparación adecuada con el resto de los pacientes ya que tenemos

una sobrevida de 4 meses para los casos 13 y 24 y una de 25 días para un paciente con una línea celular normal (caso 19). Esto podría explicarse si consideramos que todos presentan más de un defecto cromosómico, lo cual se asocia con muy mal pronóstico y corresponde con frecuencia a etapas terminales de la enfermedad (76). La mayoría de los pacientes acuden a consulta en estas etapas, lo que explicaría la alta incidencia de aberraciones secundarias (83%) en contraste con lo reportado (40-45%) (10).

Una aberración numérica como defecto primario en LMA sólo se observó en un paciente (caso 23). Este paciente con monosomía 7 fue diagnosticado como M2, motivo por el que se incluyó en este trabajo, aunque el diagnóstico final fue AREBT. La monosomía 7 es común en todos los subtipos de LMA y en los síndromes dismielopoyéticos (76); en estos últimos tiene un pronóstico desfavorable, con desarrollo de LMA y sobrevida de 11 meses (10), la sobrevida de este paciente fue de 7 meses.

En tres pacientes (casos 13,15,19) se observaron hipodiploidías asociadas con algunas trisomías secundarias al rearrreglo estructural. La hipodiploidía como defecto aislado tiene una sobrevida de 5 a 18 meses dependiendo de los esquemas terapéuticos (10,76), es imposible establecer una comparación, debido a que la sobrevida en nuestros pacientes va de 25 días a 19 meses, ya que deben considerarse también las alteraciones estructurales.

En tres pacientes la t(9;22) constituyó el defecto primario (12.5%), contrastando con lo reportado en la literatura (3%) (213,317). El caso 13 fue diagnosticado morfológicamente como M1 y además del Ph' presenta una línea con un marcador y una t(2;10) como alteración secundaria (foto 8). Esta translocación no ha sido descrita en LMA, sin embargo, los puntos de ruptura sí se han encontrado en otras alteraciones en LMA (2q37) y en LLA de células-T (10q24) (10,76). El segundo (caso 22) corresponde a una M6 que además presenta del(7)(q22) (foto 4). El último (caso 24) inicialmente fue diagnosticado como LAL-L2, posteriormente se clasificó como LAM-M1 y finalmente como M7. Además del Ph' presenta del(7q) e hiperdiploidia (75-80 cromosomas), por lo que citogenéticamente se clasificaría como LAL bifenotípica (expresa células linfoides y mieloides). La t(9;22) en LMA se asocia con

del pronóstico (76,213,317). La sobrevida de estos pacientes fue de 19 meses (caso 13) y 4 (casos 22 y 24). Es interesante señalar que estos últimos comparten una del(7q) como rearreglo secundario al Ph'.

Otras translocaciones balanceadas constituyen los defectos primarios en los casos 15,16,17,18,20 y 21. Con excepción de la t(8;21) (caso 17) ninguna de éstas ha sido descrita en el subtipo en que se encuentra. La t(10;14)(q24;q32) (foto 10) se encuentra en una M2 (caso 15), los puntos de ruptura corresponden a los de rearreglos reportados en LLA (10.19,76,233,240). En este paciente no se encontró clona normal y por la gran cantidad de aberraciones secundarias probablemente se encontraba en una etapa terminal. Desgraciadamente no regresó a la consulta y no se pudo determinar la sobrevida. El caso 16 es una M2 con t(1;18)(q32;p11.2) (foto 11) no reportada en LMA, además de del(5q) común en LMA secundarias. El punto de ruptura en 1q32 interviene en una translocación no usual en LMA t(1;7)(q32;q22) que se presenta acompañada por monosomía total o parcial del cromosoma 5 y se considera de mal pronóstico (10,316). Sin embargo, se desconoce la sobrevida de este paciente.

Una t(8;21)(q22;q22) (foto 12) se presentó en el caso 17 que inicialmente se había clasificado como M1 y finalmente fue M2. Se trata de una paciente femenina de 20 años, con lo que se confirma que este rearreglo ocurre en pacientes jóvenes y que se restringe al subgrupo M2 del FAB (245,251). Se ignoran los datos de sobrevida del paciente.

El caso 18 presenta como anomalía primaria t(2;7)(q22;q22) y del(5q) como rearreglo secundario, además se observaron varios polimorfismos (1qh+, 9qh+ y 16qh+). Los puntos de ruptura de estas alteraciones intervienen en otros rearreglos de LMA, LLA y SMD (10,76). En el caso 20 se observó una t(6;8)(q25;q24) (foto 14) cuyos puntos de ruptura también intervienen en rearreglos diferentes en LMA, LLA y linfomas (10,76). Por lo anterior no es posible determinar la sobrevida teórica para los pacientes.

El caso 21 es una M6 que presenta una t(3;11)(q27;q26) (foto 15). El cromosoma 11 participa con frecuencia en rearreglos presentes

en M5 (73,245) y el cromosoma 3 en rearrreglos de SMD que siempre evolucionan a LMA (299,300). La sobrevida de este paciente fue de más de 6 meses contra la esperada de 3 (10).

Una delección del cromosoma 6(q24) se encontró en una mieloblástica (M1 ó M2) (caso 14), que además presentaba trisomías y monosomías asociadas (foto 9). La sobrevida de este paciente fue semejante a la reportada (10,76). En el caso 19, una M4, además de la hipodiploidía y dos marcadores se encontró un anillo del cromosoma 3 (foto 13). La sobrevida fue de sólo 25 días y la reportada en la literatura para anillos en M4 es de 5-6 meses (224).

Es importante señalar que los trabajos reportados en la literatura se han realizado en el extranjero y que hay grandes diferencias geográficas, socio-económicas y étnicas en relación a nuestra población. Esto dificulta la correlación entre los parámetros clínicos y los hallazgos citogenéticos en nuestros pacientes cuando se comparan con la literatura, por lo que es necesario incrementar este tipo de estudios para contar con nuestros propios parámetros.

## CAPITULO 8.

### CONCLUSIONES.

El rearrreglo cromosómico más frecuente en nuestros pacientes fue el cromosoma Ph' (29.16%), seguido de los rearrreglos en los cromosomas 7 (25%) y 6 (20.83%). Hay que considerar que en las LMA con Ph' el subtipo morfológico del FAB no está bien establecido. Por lo que citogenéticamente se les podría agrupar dentro de las LLA Ph+, en las que el rearrreglo ocurrió en una célula muy primitiva que lleva a su expresión en células linfoides y mieloides. De los 4 casos con del(7q), tres son secundarios a la t(9;22). Estos datos concuerdan con la literatura en donde 33% de las leucemias agudas Ph+ presentan del(7q) como rearrreglo secundario y son consideradas con un pronóstico intermedio (10).

Los puntos de ruptura en los rearrreglos del cromosoma 7 son muy variados, pero todos ocurren en brazo largo. En deleciones de LLA la ruptura ocurre en bandas intersticiales (q11.2). En las deleciones de LMA y todas las translocaciones los puntos de ruptura se localizan más distalmente (q22 y q33). Cabe señalar la presencia de un sitio frágil común en 7q22 (76) lo que podría explicar la participación de estas bandas en el desarrollo de la neoplasia. Las leucemias agudas con rearrreglos en 7qter están relacionadas con un inmunofenotipo específico, determinado por los rearrreglos en el locus TCR, localizado en esa región (20,58). Con la determinación del inmunofenotipo y los datos citogenéticos se podría establecer el subtipo específico de leucemia aguda en los casos 22, 23 y 24 que tienen diferencias en cuanto al diagnóstico final y presentan rearrreglos en 7qter.

En los rearrreglos del cromosoma 6 los puntos de ruptura se localizan entre las bandas q21 a q27. En las deleciones hay preferencia por las bandas intersticiales (q21 y q24), mientras que en las translocaciones la ruptura es en las bandas terminales

(q25-q27). Las rupturas en q21 y q26 pueden ser condicionadas por la presencia de dos sitios frágiles comunes en esas bandas.

De todo lo anterior podemos señalar la necesidad de una clasificación de las leucemias agudas en base a las anomalías cromosómicas. El mejor ejemplo son los casos de leucemia aguda con Ph' y del(7q) presentados en este trabajo. Además es necesario establecer una correlación entre las diferentes áreas implicadas en la clasificación de estos desórdenes. Ya que en la mayoría de los casos la discrepancia citomorfológica entre el diagnóstico inicial y final puede ser solucionada por la citogenética. Como el caso 24 en el que la anomalía cromosómica confirmó el diagnóstico final de AREBT.

Es importante establecer que el seguimiento citogenético de cada paciente dará al clínico la pauta para condicionar la terapia adecuada según la evolución del padecimiento. Además de que la citogenética puede utilizarse como indicador pronóstico sin considerar otros criterios. De tal forma que en los pacientes que se encuentran en remisión la presencia de alteraciones cromosómicas será indicativa de recaída aun cuando no se presente sintomatología clínica (10,76).

Con respecto al pronóstico, en algunos de nuestros casos, no fue posible establecer la supervivencia real del paciente. Esto debido principalmente a que los pacientes acuden a consulta en etapas terminales de la enfermedad, ya que generalmente son de un nivel socioeconómico bajo y no tienen los recursos para acudir a la institución. Sin embargo, en otros casos aunque el paciente sea diagnosticado en etapas tempranas, la institución carece de recursos para proporcionar la quimioterapia adecuada en forma periódica. Esto ocasiona una progresión más rápida de la enfermedad y en consecuencia una supervivencia más corta, que citogenéticamente se refleja en la cantidad y naturaleza de las alteraciones secundarias. Además dificulta la correlación citogenética-pronóstico y su comparación con la literatura.

Considerando que hemos encontrado algunas anomalías citogenéticas no reportadas y otras que no corresponden al tipo citomorfológico en el que se encuentran, es necesario estudiar un número mayor de pacientes. Además hay que considerar que la frecuencia de las diferentes neoplasias presentan variaciones geográficas y étnicas determinadas por la respuesta del organismo a carcinógenos ambientales u ocupacionales. Por lo que debe determinarse cual es la frecuencia de leucemias agudas en nuestra población, así como, también las aberraciones cromosómicas más comunes en estos padecimientos, ya que representan un problema importante de morbi-mortalidad en nuestro medio.



## CAPITULO 9.

### BIBLIOGRAFIA .

- 1.- Williams, J.W. (1983) "Hematologia". 2th ed. Salvat. Barcelona. 1475p.
- 2.- Wintrobe, M.W. (1966) "Clinical Hematology". 6th ed. Lea & Febiger. Philadelphia. 1169p.
- 3.- Williams, J.W., Beutler, E., Erselev, A., Rundles, W. (1977) "Hematology". 2th ed. Mc Graw Hill. New York. 1720p.
- 4.- Catovsky, D., Sultan, C., Bennett, J. (1977) "Classification of Acute Leukemia". Ann Inter Med. 87:740-753.
- 5.- Argyle, C.J., Benjamin, D., Lanpkin, B., Hammond, D. (1989) "Acute Nonlymphocytic Leukemias of Childhood". Cancer. 63:295-301.
- 6.- Catovsky, D. (1982) "The classification of acute leukemia". Pathology. 14:277-281.
- 7.- Lerraza, O., Rosales, L.M., Arteaga, A. (1984) "Electron microscopy study of hematologic neoplasm in peripheral blood buffy coats" Patologia. 22:7-20.
- 8.- Woessner, S. (1988) "Metodologia general en el diagnóstico citohematológico". Sangre. 33:303-305.
- 9.- Koepke, J.A. (1983) "Análisis de laboratorio clínico para diagnósticos". 3th ed. Lisusa. México. 175-200.
- 10.- Reis, S., Hiteisman, F., (1987) "Cancer Cytogenetics". Alan R. Liss. New York. 309p.
- 11.- Stites, D., Stobo, J., Wells, V. (1988) "Inmunología Basica y Clínica" 6th ed. El Manual Moderno. México. 756p.
- 12.- Sobol, R.E., Royston, J., Le Bien, T.W. et al. (1985) "Adult acute lymphoblastic leukemia phenotypes defined by monoclonal antibodies" Blood. 60:730-735.
- 13.- Foon, K.A., Todd, R.F. (1986) "Immunologic classification of leukemia lymphoma". Blood. 68:i-31.
- 14.- Maluska, F., Tsujimoto, Y., Croce, C. (1987) "Mechanisms of chromosome translocation in B- and T-cell neoplasia". Trends in Genetics (TIG). 3:11-15.
- 15.- Watson, J.D., Hopkins, M.N., Roberts, J.W., Steitz, J.A., Weiner, A.M. (1988) "Molecular Biology of the Gene". 4th ed. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. California. 1006-1096.

- 16.- Uckun,F., Gajil-Peczalske,K., Provisor,A., Heorema,N. (1989) "Imunofenotipe-Karyotype Associations in Human Acute Lymphoblastic Leukemia". Blood. 73:271-280.
- 17.- Croce,C.M. and Klein,G. (1985) "Translocaciones cromosómicas y cancer humano". En El Cáncer. (1986) Santos,E., Rodriguez,U.E. Scientific American. Prensa científica. 2a ed. Barcelona. 117-123.
- 18.- Miyamoto,K., Tomita,N. et al. (1987) "Specific abnormalities of chromosome 14 in patients with acute type of adult T-cell leukemia lymphoma". Int.J.Cancer. 40:461-468.
- 19.- Kagan,J., Finger,L., Letofsky,J., Finan,J., Nowell,P., Croce,C. (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.
- 20.- Raimondi,S., Pui,C-H., Behm,G., Williams,J. (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.
- 21.- Boehm,T., Baer,R., Laventr,R., Forster,A. et al. (1988) "The mechanism of chromosomal translocation t(11;14) involving the T-cell receptor delta locus on human chromosome 14q11 and a transcribed region of chromosome 11p15". The EMBO Journal. 7:385-394.
- 22.- Stanberg,J. (1987) "Chromosome abnormalities in erythroleukemia". Cancer. 60:2649-2653.
- 23.- First MIC Cooperative Study Group. (1986) "Morphologic, immunologic and cytogenetic (MIC) working classification of acute lymphoblastic leukemias". Cancer Genet Cytogenet. 23:189-197.
- 24.- Hayhoe,F.G. (1988) "Classification of acute leukemias". Blood Rev. 2:186-193.
- 25.- Nakamura,H. (1989) "Cytogenetic heterogeneity in erythroleukemia defined as M6 by the French-American-British (FAB) Cooperative Group criteria". Leukemia. 3:305-309.
- 26.- Greenber,S.M., Rosenthal,D.S., Greeley,T.A., Tantravahi,R., Handin,R.I. (1988) "Characterization of a new megakaryocytic cell line: the Dasicell". Blood. 72: 1968-1977.
- 27.- Koller,V., Haas,D.A., Korpmauller,R., Madjic,O., Gadner,H., Knapp,W. (1989) "Imunofluorecence and imunocytochemical stain methods for simultaneous cytogenetic and phenotypic characterization of mitotic cells". Wien Klin Wochenschr. 110:11-117.
- 28.- Neame,P.B., Soamboonsrup,P., Browman,G.P. et al. (1986)

"Classification acute leukemia by immunophenotyping: a combined FAB-immunologic classification of AML". Blood. 68:1355-1362.

29.- Griffin, J.D., Davis, R., Nelson, D.A. et al. (1986) "Use of surface markers analysis to predict outcome of adult myeloblastic leukaemia". Blood 68:1232-1241.

30.- Carbonel, U.F. et al. (1988) "Estudio de los marcadores inmunológicos y su correlación con la clasificación FAB en 100 leucemias agudas". Sangre. 33:8-11.

31.- Ojeda, E. et al. (1988) "Estudio comparativo entre la clasificación del FAB y un modelo de clasificación inmunológica para las leucemias mieloides agudas". Sangre. 33:291-295.

32.- Neame, P.E., Scamboonsrup, P., Browman, G.P. et al. (1986) "Classifying acute leukemia by immunophenotyping: a combined FAB-immunologic classification of AML". Blood. 67:1048-1053.

33.- San Miguel, J.F. et al. (1986) "Surface marker analysis in acute myeloid leukemia and correlation with FAB classification". Br.J.Haematol. 64:547-560.

34.- Paietta, E., Andreeff, M., Papenhausen, P., Gucaip, R., Wiernick, P.H. (1989) "Distinct antigen expression related to DNA poidy in a case of biphenotypic leukemia". Leukemia. 3:76-78.

35.- Griesinge, F. et al. (1989) "Mature T-lineage leukemia with growth factor-induced multilineage differentiation". J.Exp.Med. 169:1101-1120.

36.- Second MIC Cooperative Study Group. (1988) "Morphologic, immunologic and cytogenetic (MIC) working classification of the acute myeloid leukaemias". Br.J.Haematol. 68:487-494.

37.- Sandler, D., Collman, G. (1987) "Cytogenetic and environmental factors in the etiology of the acute leukemias in adults". Am.J.Epidemiol. 126:1017-1032.

38.- Knudson, A.G. (1976) "Germinal and somatic mutations in cancer". In Proc 5th Int Congr Hum Genet México City. Amsterdam. Excerpta Medica. Oct 10-15, 1976 pp:376-371.

39.- Knudson, A.G. (1977) "Genetics and etiology of human cancer" Adv Hum Genet. 8:1-66.

40.- Knudson, A.G. (1986) "Genetics of Human Cancer". Ann Rev Genet. 20:231-251.

41.- Epstein, C.H.I. (1986) "The consequences of chromosome imbalance, principles, mechanisms and models". Cambridge. University Press. USA. 344-365.

42.- Cairns, J. (1976) "El problema del cáncer". En El Cáncer. (1986). Santos, E., Rodríguez, U.E. Scientific American. Prensa

Científica. 2a ed. Barcelona. 12-23.

43.- Franks,L.M., Teich,N.M. (1986) "Introduction to the cellular and molecular biology of cancer". Oxford University Press. pp458.

44.- Fialkow,P. et al. (1981) "Acute nonlymphocytic leukemia: heterogeneity of stem cell origin". Blood. 57:1068-1073.

45.- Kurita,S., Kamei,S. (1969) "Genetics of familial leukemia". Jpn.J.Hum Genet. 14:163-179.

46.- Chaganti,C. et al. (1979) "Cytogenetic evidence of the intrauterine origin of acute leukemia in monozygotic twins". N.Engl.J.Med. 300:1032-1034.

47.- Hartley,S., Sainsburg,C. (1981) "Acute leukemia and the same chromosome abnormality in monozygotic twins". Hum Genet. 58:408-410.

48.- Rivera,R., Kofman,S. (1989) "Genética y Cáncer". Rev Med Hosp Gen Méx. 32:142-151.

49.- Brewster,H.F., Cannon,H.E. (1930) "Acute lymphatic leukemia: report of case in eleventh month mongolian idiot". New Orleans Med Surg J. 82:872-873.

50.- Weinberger,M.M., Olenick,A. (1970) "Congenital marrow dysfunction in Down's syndrome". J.Pediatr. 77:273-279.

51.- Groupe Francais de Cytogenétique Hématologique. (1988) "Cytogenetic findings in leukemic cells of 56 patients with constitutional chromosome abnormalities. A cooperative study". Cancer Genet Cytogenet. 35:243-252.

52.- Chaganti,R.S.K., Bailey,R.B. et al. (1982) "Chronic myelogenous leukemia in the monosomic cell line of a fertile Turner syndrome mosaic (45X/46XX)". Cancer Genet Cytogenet. 5:215-221.

53.- Chaganti,R.S.K., Jhanwar,S.C., Arlin,Z.A., Clarkson, B.D. (1982) "Chronic myelogenous leukemia in an XYY male". Cancer Genet Cytogenet. 5:223-226.

54.- Atichartakarn V., Panyasamee,B., Wongsasant,B., Jostar,S. (1986) "Acute nonlymphocytic leukemia with a translocation (1;3)(p36;q21) in an XYY man". Cancer Genet Cytogenet. 21:79-83.

55.- Notario,V. (1986) "Retrovirus, factores de crecimiento y oncogénesis". En El Cáncer. (1986) Santos,E., Rodríguez,V.E. Scientific American. Prensa científica. 2a ed. Barcelona. 117-123.

56.- Pearson,M., Rowley,J.D. (1985) "The relation of oncogenesis and cytogenetics in leukemia and lymphoma". Ann Rev Med 36:471-483.

- 57.- Bishop, J.M. (1983) "Cellular oncogenes and retrovirus". *Ann Rev Biochem.* 52:301-354.
- 58.- Sriver, C.R., Beaudet, A.L., Sly, W.S., Valle, D. (1989) "The metabolic basis of inherited disease". 6th ed. Mc Graw Hill. USA. 251-276.
- 59.- Land, H., Parada, L., Weinberg, R.A. (1983) "Cellular oncogenes and multistep carcinogenesis". *Science.* 222:771-778.
- 60.- Graham, F.L., Van der Eb, A.J. (1973) "A new technique for the assay of infectivity of human adenovirus 5 DNA". *Virology.* 52:456-457.
- 61.- Pellicer, A.D., Robins, B., Wold, R., Sweets, J., Jackson, J., Lowy, J.M., Roberts, G.K., Sims, S., Silverstein, R. (1980) "Altering genotype and phenotype by DNA-mediated transfer". *Science.* 209:1414-1422.
- 62.- Cooper, G.M. (1982) "Cellular transforming genes". *Science.* 217:801-806.
- 63.- Barymann, C.I., Hung, M.C., Weinber, R.A. (1986) "Multiple independent activations of new oncogene by a point mutation altering the transmembrane domain of p185". *Cell.* 45:649.
- 64.- Cooper, C.S., Park, M., Blair, D.G., Tainsky, M.A., Hoebner, K., Croce, C.M., Wande, G.F. (1984) "Molecular cloning of a new transforming gene from a chemically transformed human cell line". *Nature.* 311:29.
- 65.- Zanca, M.D., Hughes, S.H., Barbacid, M. (1986) "A human oncogene formed by fusion of truncated tropomyosin and protein tyrosine kinase sequences". *Nature.* 314:743.
- 66.- Fasano, O., Birnbaum, D., Edlund, L., Fogh, J., Wigler, M. (1984) "New human transforming genes detected by a tumorigenicity assay". *Mol Cell Biol.* 4:1695.
- 67.- Yamamoto, T., Ikawa, S., Akiyama, T., Sembak, L., Nomura, N., Miyajima, N., Saitto, T., Toyashimak, T. (1986) "Similarity of protein encoded by the human c-erbB2 gene to epidermal growth factor receptor". *Nature.* 319:230.
- 68.- Bovi, P.D., Curatola, A.M., Kern, F.G., Greco, A., Hman, M., Basilico, C. (1987) "An oncogene isolation by transfection of Kaposi's sarcoma DNA encodes a growth factor that is a member of the FGF family". *Cell.* 50:729.
- 69.- Bartram, C.R. (1985) "Activation of proto-oncogenes in human leukemias". *Blut.* 51:63-71.
- 70.- Downward, J. et al. (1984) "Close similarity of epidermal growth factor receptor and v-erbB oncogene protein sequences".

Nature. 307:521.

- 71.- Schwab,M.K., Alitalo,K. et al. (1983) "Amplified DNA with limited homology to myc cellular oncogene is shared by human neuroblastoma tumor". Nature. 305:245-248.
- 72.- Brodeur,G.M., Seeger,R.C., Schwab,M., Varmos,H.E., Bishop,J.M. (1984) "Amplification of N-myc in untreated human neuroblastomas correlates with advanced disease stage". Science. 224:1121.
- 73.- Yunis,J.J. (1983) "The chromosomal basis of human neoplasia". Science, 221:227-236.
- 74.- De Klein,A. (1987) "Oncogene activation by chromosomal rearrangement in chronic myelocytic leukemia". Mutat Res. 186:161-172.
- 75.- Drazzen,O., Canasani,E., Gale,P.R. (1988) "Molecular biology of chronic myelogenous leukemia". Sem Hematology. 25:35-49.
- 76.- Yunis,J.J. (1986) "Chromosomal rearrangement, genes and fragile sites in cancer: clinical and biologic implications". En Important advances in oncology. (1986) Devita,V.T., Rosenberg,S.A. ed. Lippincott Co. San Francisco. 93-128.
- 77.- Collins,S.J. (1987) "The HL-60 promyelocytic leukemia cell line: proliferation, differentiation and cellular oncogene expression". Blood. 70:1233-1234.
- 78.- Hunter,T. (1984) "Proteinas de oncogenes". En El Cáncer. (1986) Santos,E., Rodriguez,V., ed. Scientific American. Prensa científica 2a ed. Barcelona: 75-85.
- 79.- Weinberg,R.A. (1983) "Easo molecular del cáncer". En El Cáncer. (1986). Santos,E., Rodriguez,V.E., ed. Scientific American. Prensa científica. 2a ed. Barcelona. 86-97.
- 80.- Le Beau,M.M. (1986) "Chromosomal fragile sites and cancer-specific rearrangements". Blood, 67:849-858.
- 81.- Miro,R., Clemente,J.C., Foster,C., Egozcue,J. (1987) "Fragile sites, chromosome evolution and human neoplasia" Human Genet. 75:345-349.
- 82.- Yunis,J.J., Soreng & Anne Bowe. (1986) "Fragile sites are targets of diverse mutagens and carcinogens". Oncogene. 1:59-69.
- 83.- Yunis,J.J., Soreng,L. (1984) "Constitutive fragile sites and cancer". Science, 226:1199-1204.
- 84.- Le Beau,M.M., Rowley,J.D. (1984) "Heritable fragile sites in cancer". Nature, 308:607-608.
- 85.- Mules,E.H., Testa,J.R. 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.

86.- Nagesh Rao, P., Heerema, N.A., Palmer, G.C. (1988) "Expression of fragile sites in childhood acute lymphoblastic leukemia a patients and normal controls". *Hum. Genet.* 79:329-334.

87.- Yunis, J.J. et al. (1984) "Recurrent chromosomal defects are found in most patients with acute nonlymphocytic leukemia". *Cancer Genet Cytogenet.* 11:125-137.

88.- Bishop, J.M. (1982) "Oncogenes". In *El Cáncer* (1986). Santos, E., Rodríguez, V.E. ed. Scientific American. Prensa Científica 2a ed. Barcelona. 62-74.

89.- Gallo, R.C., Wong-Staal, F. (1982) "Retrovirus as etiologic agents of some animal and human leukemias and lymphomas and as tools for elucidating the molecular mechanism of leukemogenesis". *Blood*, 60:545-557.

90.- Wong-Staal, F., Gallo, R.C. (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.

91.- Geissler, E., Theille, M., (1983) "Virus-induced gen mutations of eukaryotic cells". *Hum. Genet.* 63:1-12.

92.- Szmuness, W. (1978) "Hepatocellular carcinoma and the hepatitis B-virus; evidence for causal associated". *Prog. Med. Virol.* 24:40-69.

93.- Henle, W., Henle, G., Lennett, E. (1979) "El virus de Epstein-Barr". In *El cáncer*. (1986). Santos, E., Rodríguez, V.E. ed. Scientific American. Prensa científica. 2a ed. Barcelona. 104-116.

94.- Sheinin, R. (1981) "Tumor viruses as modifier of the nuclear genome of eukaryotic cells". *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 361:435-460.

95.- Torres, A. Martínez-Guibelalde, F. et al. (1981) "Conceptos actuales de la etiopatogenia de las leucemias agudas". *Sangre*, 26:700-717.

96.- Chosa, T., Yamamoto, N., Tanaka, Y., Koyanagi, Y., Hinumo, Y. (1982) "Effectivity in a human retrovirus adult T-cell leukemia virus". *Gann.* 73:844-847.

97.- Moloney, W.C. (1987) "Radiogenic leukemia revisited". *Blood*. 70:905-908.

98.- Kohn, K.I., Fry, M.R.I. (1984) "Radiation carcinogenesis". *N. Engl. J. Med.* 310:504-509.

- 99.- Sandberg,A. (1980) "The chromosomes in human cancer and leukemia". Elsevier North Holand. New York. 748pp.
- 100.- Sheikh,K., (1986) "Exposure to electromagnetic fields and the risk of leukemia". Arch Environmental Health. 41:56-63.
- 101.- Amenomorro,T., Honda,T., Otake,M. et al. (1988) "Growth and differentiation of circulating hemopoietic stem cells with atomic bomb irradiation-induced chromosome abnormalities". Exp.Hematol. 16:849-854.
- 102.- Gumerlock,P.H. et al. (1989) "Activated c-N-ras in radiation induced acute nonlymphocytic leukemia: twelfth codon aspartic acid". Radiation Res. 117:198-206.
- 103.- Upton,A.C. (1982) "Radiaciones ionizantes de bajo nivel y sus efectos biológicos". En El Cáncer. (1986). Santos,E.,Rodriguez,V.E. ed Scientific American. Prensa científica. 2a ed. Barcelona. 26-35.
- 104.- Ennis,J., Muirhead,C.R. (1985) "X-Rays in Pregnancy and Risk of Childhood Cancer". Lancet. 2:1185.
- 105.- Hopton,P.A., Mckinney,P.A., et al. (1985) "X-Rays in pregnancy and the risk of childhood cancer". Lancet. 2:773.
- 106.- Mervelo,D., Offer,M., Rassomando,A. (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.
- 107.- Chen,S.J., Derre,J., et al. (1989) "Are most secondary acute lymphoblastic leukemias mixed acute leukemias?". Nov.Rev.Fr.Hematol. 31:17-22.
- 108.- Yokota,S. et al. (1989) "Acute nonlymphocytic leukemia (M2) with chromosome abnormality trisomy 4 developing eight years after radiation therapy for breast cancer". Blut. 59:27-31.
- 109.- Viglia,E.C., Sarta,G. (1964) "Benzene and leukemia". N.Engl.J.Med. 271:872.
- 110.- Aksoy,M. (1976) "Types of leukemia in chronic benzene poisoning. A study in thirty four patients". Acta.Haematol. 55:65.
- 111.- Cohen,T., Greger,W.P. (1967) "Acute mieloid leukemia following seven years of aplastic anemia induced by chloramphenicol". Am.J.Med. 43:762.
- 112.- Jedlika,V. (1958) "Promyeloblastic leukemia appearing simultaneously in two blood cousins after simultaneous contact with gammexane". Acta.Med.Scand. 81:445.
- 113.- Jensen,M.K., Rotl,K. (1965) "Phenylbutazone and leukemia". Acta.Med.Scand. 178:505.



- 114.- Hogstedt,C.H., Malmquist,N., Wadman,V. (1979) "Leukemia in worker exposed to ethylene oxide". JAMA. 242:1132.
- 115.- Mitelman,F., Brandt,L., Nilsson,P.G. (1978) "Relation among occupational exposure to potential mutagenic/carcinogenic agents, clinical findings and bone marrow chromosomes in acute nonlymphocytic leukemia". Blood. 52:1229-1237.
- 116.- Mitelman,P.G., Nilsson,P.G., Brant,L., Alimena,G., Montudro,A. (1979) "Chromosomes, leukemia and occupational exposure to leukemogenic agents". Lancet. 2:1195-1196.
- 117.- Canellos,G.P., Devita,V.T., Arseneau,J.C. et al. (1975) "Second malignancies complication Hodgkin's disease in remission". Lancet. 1:947-949.
- 118.- Cadman,E.C., Capizzi,R.L., Bertino,J.R. (1977) "Acute nonlymphocytic leukemia a delayed complication of Hodgkin's disease therapy: analysis of 109 cases". Cancer. 40:1280-1296.
- 119.- Arseneau,J.C., Sponzo,R.W., Levin,D.L. et al. (1972). "Nonlymphomatous malignant tumors complicating Hodgkin's disease". N.Engl.J.Med. 287:1119-1122.
- 120.- Greene,M.H., Harris,E.L., Gershenson,D.M. et al. (1986). "Melphalan may be a more potent leukemogen than cyclophosphamide". Ann.Intern.Med. 105:360-367.
- 121.- Berk,P.D., Goldberg,J.D., Silverstein,M.N. et al. (1981). "Increased incidence of acute leukemia in polycythemia vera associated with chlorambucil therapy". N.Engl.J.Med. 304:441-447.
- 122.- Reiser,R.R., Hoover,R., Fraumeni,J.F. et al. (1977) "Acute leukemia after alkylating agent therapy of ovarian cancer". N.Engl.J.Med. 297:177-181.
- 123.- Bracey,A.W., Maddox,A.M., Imken,L., Hsu,S.H., Marks,M.E. (1989) "Coexistence of myelodysplastic syndrome and untreated chronic lymphocytic leukemia with development of acute myeloid leukemia immediately after treatment of chronic lymphocytic leukemia". Am.J.Hematol. 30:174-180.
- 124.- Shepard,K.V., Larson,R., Le-Beau,M.M., Leichman,L., Levin,B. (1988) "Acute leukemia occurring after radiotherapy and chemotherapy with nitrosourea". Invest.New.Drugs. 6:121-124.
- 125.- Orazi,A. et al. (1988) "Morphologic, immunologic and cytogenetic characteristics of secondary acute unclassifiable leukemia in Hodgkin's disease". Tumori. 74:439-450.
- 126.- Mamuris,Z., Prieur,M., Dutrillaux,B., Aurias,A. (1989) "The chemotherapeutic drug melphalan induces breakage of chromosome regions rearranged in secondary leukemia". Cancer Genet Cytogenet. 37:65-77.

127.- Von Hanseemann, D. (1890) "Ueber asymmetrische zelltheilung in epithelkrebsen und deren biologische bedeutung". Virchows Arch. A. Pathol. Anat. 119:299-326.

128.- Boveri, T. (1914) "Zur frage der entstehung maligner tumoren gustav fischer". Jena. 1-64.

129.- Hsu, T.C. (1979) "Human and mammalian cytogenetics. An historical perspective". Springer Verlag. New York.

130.- Tjio, J.H., Levan, A. (1956) "The chromosome number of man". Hereditas. 42:1-6.

131.- Nowell, P.C. (1960) "Phytohemagglutinin: An initiator of mitosis in cultures of normal human leukocytes". Cancer Res. 20:462-466.

132.- Moorhead, P.S., Nowell, P.C., Mellman, W.J., Battips, D.M., Hungerford, D.A. (1960) "Chromosome preparations of leukocytes cultures of normal human peripheral blood". Exp. Cell. Res. 20:613-616.

133.- Nowell, P.C., Hungerford, D.A. (1960) "A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia". Science. 132:1497.

134.- Caspersson, T., Zech, L., Johansson, C. (1970) "Differential binding of alkylating fluorochromes in human chromosomes". Exp. Cell. Res. 60:315-319.

135.- Rowley, J.D. (1980) "Chromosome abnormalities in human leukemia". Ann. Rev. Genet. 14:17-39.

136.- Yunis, J.J. (1976) "High resolution of human chromosomes". Science. 191:1268-1270.

137.- Eeary, E.H.A. (1984) "An introduction to recombinant DNA". John Wiley & Sons, New York.

138.- Testa, J.R., Rowley, J.D. (1981) "Chromosomes in leukemia and lymphoma with special emphasis in methodology". In: the leukemic cell. Catovsky, D. ed. Churchill Livingstone. Edinburg and London: 182-202.

139.- Yunis, J.J. (1981) "New chromosome techniques in the study of human neoplasia". Human Pathology. 12:540-549.

140.- Aye, M.T., Till, J.E., McCulluch, E.A. (1972) "Growth of leukemic cells in culture". Blood. 40:806.

141.- Knudtson, S.Y., Mortensen, B.T. (1976) "Interaction between normal and leukemic human cells in agar culture". Scand. J. Haematol. 17:369.

142.- Aye, M.T., Till, J.E., McCulluch, E.A. (1974) "Cytological

studies of colonies in culture derived from the peripheral blood cells of two patients with acute leukemia". *Exp.Hemat.* 2:362.

143.- Chervenik,P.A., Ellis,L.D., Pan,S.F., Lawson,A.L. (1971). "Human leukemic cells: in vitro growth of colonies containing the Philadelphia (Ph') chromosome". *Science.* 174:1134.

144.- Carbonell,F., Fliedner,T.M., Kratt,E., Saverwein,K. (1979). "Crecimiento de las células leucémicas en cultivo: selección de clones citogenéticamente anormales". *Sangre.* 24:1057-1060.

145.- Fitzserald,P.N., Morris,C.M., Giles,L.M. (1982) "Direct versus cultured preparation of bone marrow cells from 22 patients with acute myeloid leukemia". *Human.Genet.* 60:281-283.

146.- Rowley,J.D., Testa,J.R. (1982) "Chromosome abnormalities in malignant hematologic diseases". *Adv.Cancer res.* 36:103-148.

147.- Yunis,J.J. (1981) "Chromosomes and Cancer: New nomenclature and future directions". *Human Pathology.* 12:494-502.

148.- Lauer,S.D. (1982) "Significance of chromosome abnormalities in leukemia". *Sem.Hematology.* 19:257-271.

149.- Caspersson,T., Zech,L., Johansson,C., Modes,E.J. (1970). "Identification of chromosomes by DNA-binding fluorescent agents". *Chromosoma.* 20:215-227.

150.- Wang,K.C., Fedoroff,S. (1972) "Banding in human chromosomes treated with trypsin". *Nature New.Biol.* 253:52-54.

151.- Dutrillaux,B. (1973) "Application to the normal karyotype of R band and G band techniques involving prototype dypasten". *Nobel Sympostus.* 23:48.

152.- Dutrillaux,B. (1973) "New series of chromosome banding: the T-bands". *Chromosoma.* 44:395.

153.- Sumner,A.T. (1972) "A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin". *Exp.Cell.Res.* 75:304-306.

154.- Matsuura,J., Mayer,M., Jacobs,P. (1978) "A cytogenetic survey of an institution for the mentally retarded. II.C-band chromosome heteromorphisms". *Human.Genet.* 45:33-41.

155.- Erdtmann,B., Salzano,F.M., Matteui,M.S., Flores,R.Z. (1981) "Quantitative analysis of C-bands in chromosomes 1,9 and 16 of Brazilian, Indians and caucasoids". *Human.Genet.* 57:56-63.

156.- Atkin,N.B. (1977) "Chromosome I. Heteromorphisms in patients with malignant disease: a constitutional marker for high-risk group?". *Br.J.Med.* 1:358.

157.- Atken,N.B., Baker,M.C. (1977) "Pericentric inversion of chromosome 1: frequency and possible association with cancer".

Cytogenet. Cell. Genet. 19:180-184.

158.- LeConiat, M., Vecchione, D., Bernheim, A., Berger, R. (1982). "C-banding studies in acute non-lymphocytic leukemia". *Cancer Genet. Cytogenet.* 5:327-331.

159.- Labal de Vinuesa, M., Mudry, L.M., DePargament, M. (1984). "Heterochromatic variants and their association with neoplasias. I chronic and acute leukemia". *Cancer Genet. Cytogenet.* 13:297-302.

160.- Berger, R., Berheia, A., LeConiat, M., Vecchione, D. (1979). "C-banding studies in various blood disorders". *Cancer Genet Cytogenet.* 1:95-102.

161.- Kristoffersson, V., Bernheim, A., Berger, R., Nilsson, B., Heim, S., Mandahl, N., Mitelman, F. (1989) "Constitutional C-band polymorphism in lymphocytes from patients with chronic myeloid leukemia". *Hereditas.* 110:145-148.

162.- Paris Conf. 1971. (1972) "Standardization in human cytogenetic". In: *Birth Defects Orig. Artic. Ser. Vol 8, No. 7. Natl. Found. March of Dimes, New York.*

163.- ISCN (1985) "An international system for human cytogenetic nomenclature". In: *Birth Defects. Original Article Series, Vol 21, No. 1, National Foundation-March of Dimes, New York.*

164.- Holliday, R. (1989) "Chromosome Error Propagation and cancer". *TIG.* 5:42-45.

165.- Heim, S., Mitelman, F. (1987) "Secondary chromosome aberrations in the acute leukemias". *Cancer Genet Cytogenet.* 22:331-338.

166.- Mitelman, F., Levan, G. (1981) "Clustering of aberrations to specific chromosomes in human neoplasmas IV. A survey of 1,871 cases". *Hereditas.* 95:79-139.

167.- Rowley, J.D. (1980) "Chromosome abnormalities in human leukemia". *Ann. Rev. Genet.* 14:17-39.

168.- Third International Workshop on Chromosomes in Leukemia 1980. (1981a) "Chromosomal abnormalities in acute lymphoblastic leukemia". *Cancer Genet Cytogenet.* 4:101-110.

169.- Third International Workshop on Chromosomes in Leukemia 1980. (1981b). "Clinical significance of chromosomal abnormalities in acute lymphoblastic leukemia". *Cancer Genet Cytogenet.* 4:111-137.

170.- Williams, D.L., Harber, J., Murphy, S.B., Look, A.T., Kalwinsky, D.K., Rivera, G., Melvin, S.L., Stass, S., Dahl, G.V. (1986) "Chromosomal translocations play a unique role in influencing prognosis in childhood acute lymphoblastic leukemia".

Blood. 68:205-212.

- 171.- Kaneko,Y., Rowley,J.D., VariaKojis,D., Chilcote,R.R., Check,J., Sakurai,M. (1982) "Correlation of karyotype with clinical features in acute lymphoblastic leukemia". Cancer Res. 42:2918-2929.
- 172.- Williams,D.L., Raimond,S., Rivera,G., George,S., Bevers,C.W., Murphy,S.B. (1985) "Presence of clonal chromosome abnormalities in virtually all cases of acute lymphoblastic leukemia". N.Engl.J.Med., 313:640-641.
- 173.- Bloomfield,C.D., Goldman,A.I. et al. (1986) "Chromosomal abnormalities identify high-risk and low-risk patients with acute lymphoblastic leukemia". Blood. 67:415-420.
- 174.- Pui,C.H., Williams,O., Raimondi,S.C., Rivera,G.K., Dodge,R.K., George,S.L., Beha,G., Crist,W.M., Murphy,S.B. (1987). "Hypodiploidy is associated with a poor prognosis in childhood acute lymphoblastic leukemia". Blood. 70:247-253.
- 175.- Pui,C.H., Raimondi,S.C., Dodge,R.K., Rivera,G.K., Fuchs,L.A., Abromowith,M., Look,A.T., Furman,W.L., Crist,W.M., Williams,D.L. (1989) "Prognostic importance of structural chromosomal abnormalities in children with hyperdiploid (>50 chromosomes) acute lymphoblastic leukemia". Blood. 73:1963-1967.
- 176.- Heim,S., Mitelman,F. (1986a) "Numerical chromosome aberrations in human neoplasia". Cancer Genet Cytogenet. 22:99-108.
- 177.- Garson,H.O. (1982) "The value of chromosome studies in the classification and management of the leukemias". Pathology. 14:291-294.
- 178.- Rowley,J.D. (1975) "Nonrandom chromosomal abnormalities in hematologic disorders of man". Proc.Nat.Acad.Sci.USA. 72:152-156.
- 179.- Smets,L.A., Slater,R.M., Behrenalt,H., Van't-Verr,M., Homan-Block,J. (1985) "Phenotypic and karyotypic properties of hyperdiploid acute lymphoblastic leukemia of childhood". Br.J.Haematol. 61:113-123.
- 180.- Kessous,A., Corberand,J., Grazdez,J., Colombies,P. (1975). "Clone cellulaire a 27 chromosomes dans une leucemie sigue humaine". Nouv.Rev.Franc.Hematol. 15:73.
- 181.- Kaneko,Y., Sakurai,M. (1980) "Acute lymphocytic leukemia (ALL) with near-haploidy a unique subgroup of ALL?". Cancer Genet Cytogenet. 2:13.
- 182.- Oshimura,M., Freese,A.J., Sandberg,A.A. (1977a). "Chromosomes an causation of human cancer and leukemia XXIII. Near-haploidy in acute leukemia". Cancer. 40:1143.

- 183.- Prieto, F., Badia, L., Mayans, J., Gons, F., Marty, M.L. (1978). "Hipodiploidia de 26 cromosomas en leucemia linfoblástica aguda". *Sangre*. 23:484.
- 184.- Shabtai, F., Halbrecht, J. (1981) "Studies of banded chromosomes in patients with acute lymphocytic leukemia, including patient with the Burkitt-type (L3)". *Cancer Genet Cytogenet.* 3:11-15.
- 185.- Prieto, F., Badia, L., Castell, V., Perez-Sirvent, M.L., Marty, M.L. (1981) "Citogenética de las leucemias agudas". *Sangre*. 26:738-755.
- 186.- Misawa, S., Ogusa, N., Testa, J.R. (1985) "A case of acute lymphoblastic leukemia with severe hipodiploidy". *Cancer Genet Cytogenet.* 16:137-143.
- 187.- Kristoffersson, V., Olsson, H., Kelly, D., Akerman, M., Mitelman, F. (1986) "Near-haploidy in a case of plasmocytoma". *Cancer Genet Cytogenet.* 19:239-243.
- 188.- Sandberg, A.A., Morgan, S.S., Boros, L. (1988) "Trisomy 5 as a sole anomaly in acute lymphoblastic leukemia". *Cancer Genet Cytogenet.* 36:31-34.
- 189.- Heinonen, K., Rautonen, J., Siimes, M.A., Knuutila, S. (1988). "Cytogenetic study of 105 children with acute lymphoblastic leukemia". *Eur. J. Haematol.* 41:237-242.
- 190.- Carroll, A.J., Crist, W.H., Paruley, R., Roper, M., Cooper, M.D., Finkey, W.H. (1984) "Pre-B-cell leukemia associated with chromosome translocation (1;19)". *Blood*. 63:721-724.
- 191.- Michael, P.M., Levin, M.D., Garson, O.M. (1984). "Translocation (1;19) a new cytogenetic abnormality in acute lymphocytic leukemia". *Cancer Genet Cytogenet.* 12:333-341.
- 192.- Williams, D.L., Look, A.T., Melvin, S.L., Roberson, P.K., Dahl, G., Flake, T., Stass, S. (1984) "New chromosomal translocations correlate with specific immunophenotypes of childhood acute lymphoblastic leukemia". *Cell*. 36:101-109.
- 193.- Michael, P.M., Garson, O.M., Celled, D.F. (1985) "A review of the t(1;19) break points in acute lymphocytic leukemia". *Cancer Genet Cytogenet.* 17:79-80.
- 194.- Shikano, T., Kaneko, Y., Takazawa, M., Veno, N., Ohkawa, M., Fujimoto, M. (1986) "Balanced and unbalanced (1;19) translocation associated acute lymphoblastic leukemias". *Cancer*. 58:2239-2243.
- 195.- Yang-Feng, T.L., Francke, V., Ullrich, A. (1985) "Gene for human insulin receptor localization to site on chromosome 19 involved in pre-B-cell leukemia". *Science*. 228:728-731.
- 196.- Van-Den-Bergher, H., David, G., Broeckart-Van-Orshoven, A.,

Lovwagie, A., Velwilghen, R., Casteels, V.D., Eggersent, E., Eeckels, R. (1979) "A new chromosome anomaly in acute lymphoblastic leukemia (ALL)". *Hum. Genet.* 46:172-180.

197.- Stark, B., Uniel, T., Mammon, Z., Galili, N., Dzaledett, M., Cohen, J.J., Steinberg, M., Vogel, R., Zaizou, R. (1986) "Leukemia of early infancy early B-cell lineage associated with t(4;11)". *Cancer.* 58:1265-1271.

198.- Abe, R., Ryan, D., Cecalopo, A., Cohen, H., Sandberg, A.A. (1983) "Cytogenetic findings in congenital leukemia: case report and review of the literature". *Cancer Genet Cytogenet.* 9:139-144.

199.- Ferro, M.T., San Román, C., Muñoz, A., Madero, L., Olmeca, F., Fernandez-Ranada, J.M., Mecocci, C. (1986) "Translocation (4;11) in ALL: a new morphologic aspect?". *Cancer Genet Cytogenet.* 23:145-149.

200.- Stark, B., Vogel, R., Cohen, J.J. et al. (1989) "Biologic and cytogenetic characteristics of leukemia in infants". *Cancer.* 63:117-125.

201.- Parkin, J.L., Arthur, D.C., Abramson, C.S. et al. (1982). "Acute leukemia associated with the t(4;11) chromosome rearrangement: ultrastructural and immunologic characteristics". *Blood.* 60:1321-1331.

202.- Nagasaka, M., Maeda, S., Maeda, H., et al. (1983) "Four cases of t(4;11) acute leukemia and its myelomonocytic nature in infants". *Blood.* 61:1174-1181.

203.- Daeschner, C.W., Elder, F.F., Carpentieri, U., Migard, M.E. (1983) "Mixed leukemia with chromosome (4;11) insertion". *Blood (suppl).* 62:573.

204.- Stong, R.C., Korsmeyer, S.J., Parkin, J., Arthur, D.C., Kersey, J.M. (1985) "Human acute leukemia cell line with t(4;11) chromosomal rearrangement exhibits B-lineage and monocytic characteristics". *Blood.* 65:21-31.

205.- Sacchi, N., Watson, D.K., Gevite van Kessel, et al. (1986). "Hu-ets-1 and Hu-ets-2 genes are transposed in acute leukemias with (4;11) and (8;21) translocations". *Science.* 231:379-382.

206.- Ching-Hon Pui, Raimondi, S.C. et al. (1987) "An analysis of leukemic cell chromosomal features in infants". *Blood.* 69:1289-1293.

207.- Propp, S. & Lizzi, F.A. (1970) "Philadelphia chromosome in acute lymphocytic leukemia". *Blood.* 36:353-360.

208.- Kalousck, D.K., Dubé, J.D., Eavest, C.J. (1988) "Cytogenetic studies of haemopoietic colonies from patients with and initial diagnosis of acute lymphoblastic leukemia". *Br.J.Haematology.* 70:5-11.

- 209.- Secker-Walker, L.M., Cooke, H.M.G. et.al. (1988) "Variable philadelphia breakpoints and potential lineage restriction of bcr rearrangement in acute lymphoblastic leukemia". *Blood*. 72:784-791.
- 210.- Iouwgie, A., Criel, A., Verfaillie, C.M., Mecucci, C., Van-Den Bergh, H. (1985) "Philadelphia-positive t-acute lymphoblastic leukemia". *Cancer Genet Cytogenet.* 16:297-300.
- 211.- Kitano, K., Sato, Y., Soda, T., Miura, Y. (1988) "Difference of cell lineage expression of haematopoietic progenitor cells in philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia and chronic myelogenous leukemia". *Br.J.Haematology.* 70:21-26.
- 212.- Rodenhuis, S., Saets, L. et.al. (1985) "Distinguishing the philadelphia chromosome of acute lymphoblastic leukemia from its counterpart in chronic myelogenous leukemia". *N.Engl.J.Med.* 313:51-52.
- 213.- Raza, A., Minowada, I., Barcos, M., Rakowski, J., Preister, H.D. (1984) "Ph<sup>+</sup>-positive acute leukemia". *Eur.J.Cancer Clin.Oncol.* 20:1509-1516.
- 214.- Priest, J.R., Robinson, L.L., McKenna, R.W., Lindquist, L.L., Warkentin, P., Bren, T.W., Woods, W.G., Kersey, J.H., Coccia, P.F., Nesbit, M.E. (1980) "Philadelphia chromosome positive childhood acute lymphoblastic leukemia". *Blood*. 56:15-22.
- 215.- Foran, S.J., O'Donnell, M.R. et.al. (1987) "Bone marrow transplantation for patients with philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia". *Blood*. 70:587-588.
- 216.- Sandberg, A.A., Morgan, R., Kipps, T.J., Hecht, B.K., Hecht, F. (1985) "The philadelphia (Ph<sup>+</sup>) chromosome in leukemia. II. Variant Ph<sup>+</sup> translocations in acute lymphoblastic leukemia". *Cancer Genet Cytogenet.* 14:11-21.
- 217.- Helenglass, G., Testa, J.R., Schiffer, C.A. (1987) "Philadelphia chromosome-positive acute leukemia: morphologic and clinical correlations". *Am.J.Hematology.* 25:311-324.
- 218.- Bernstein, R. (1988) "Cytogenetic abnormalities in CML and related disorders". *Sem.Hematology.* 25:1-34.
- 219.- Maserati, E., Cavalli, P., Morandi, S., Casalone, R., Pasquali, F. (1988) "Transposition of c-abl oncogene in a case of masked Ph<sup>+</sup> chromosome duplicated in blastic phase". *Human Genet.* 78:248-250.
- 220.- Karzrock, R., Shtalrid, M., Romero, P., Kloetzer, W.S., Talpas, M., Trujillo, J.M., Blick, M., Beran, M., Gotterman, J.U. (1987) "A novel c-abl protein product in philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia". *Nature.* 325:631-635.



- 221.- Kurgrock,R., Shtarid,M. et.al. (1987) "Molecular analysis of chromosome 22 breakpoints in adult philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia". Br.J.Haematology. 67:55-59.
- 222.- Saglio,G., Guerrasio,A., et.al. (1988) "Variability of the molecular defects corresponding to the presence of a philadelphia chromosome in human hematologic malignancies". Blood. 72:1203-1208.
- 223.- Haluska,F.G., Tsujimoto,Y., Croce,C.M. (1987) "Oncogene activation by chromosome translocation in human malignancy". Ann.Rev.Genet. 21:321-345.
- 224.- Ginsberg,C.H., Childs,C. et.al. (1988) "Phenotypic and molecular heterogeneity in philadelphia chromosome-positive acuteleukemia". Blood. 71:186-195.
- 225.- Parreira,L., Tavares de Castro,J., Hibbin,J.A. et al. (1986) "Chromosome and cell culture studies in eosinophilic leukemia". Br.J.Haematol. 62:659.
- 226.- Heerema,N.A., Palmer,C.G., Baechner,R.L. (1985). "Karyotypic and clinical findings in a consecutive series of children with acute lymphocytic leukemia". Cancer Genet Cytogenet. 17:165-169.
- 227.- Niser,S.D., Golde,D.W. (1987) "The 5q- abnormality". Blood. 70:1705-1712.
- 228.- Barletta,C., Felicci,P.G., Kenyon,L.C., Smitt,S.D., Dalla-Favera,R. (1987) "Relationship between the c-myb locus and the 6q- chromosomal aberrations in leukemias and lymphomas". Science. 235:1064-1067.
- 229.- Kowalczyk,J., Sandberg,A.A. (1983) "A possible subgroup of ALL with 9p-". Cancer Genet. Cytogenet. 9:383-385.
- 230.- Chilcote,R.R., Brown,E., Rowley,J.D. (1985) "Lymphoblastic leukemia with lymphomatous features associated with abnormalities of the short arm of chromosome 9". N.Engl.J.Med. 313:286-291.
- 231.- Maseki,N., Hayaashi,Y., Kaneko,Y., Sakurai,M. (1986) "Partial loss of the short arm of chromosome 9 in leukemia and lymphoma". Cancer Genet. Cytogenet. 22:89-91.
- 232.- Raimondi,S.C., Williams,D.L., Callihan,T., Peiper,S., Rivera,G.K., Morphy,S.B. (1986) "Nonrandom involvement of the 12p12 breakpoint in chromosome abnormalities of childhood acute lymphoblastic leukemia". Blood 68:69-75.
- 233.- Dube,J.D., Greenberg,M.L. (1986) "Phenotypic heterogeneity in three cases of lymphoid malignancy with chromosomal translocations in 14q11". Cytogenet Cell Genet. 41:215-218.

- 234.- Tsujimoto, Y., Yunis, J.J., Onaratoshove, Erickson, J., Nowell, P.C. (1984) "Molecular cloning of the chromosomal breakpoint of B-cell lymphomas and leukemias with the t(11;14) chromosome translocation". *Science*. 224:1403-1406.
- 235.- Horbott, J., Engel, R., Gerein, V., Schwaborn, D., Rudolph, R., Lempert, F. (1986) "(11;14) translocation in three boys with acute lymphoblastic leukemia of T-cell immunophenotype". *Blut*. 52:45-50.
- 236.- Hecht, F., Morgan, R., Kaiser, M., Hecht, B. (1984) "Common region on chromosome 14 in T-cell leukemia and lymphoma". *Science*. 226:1445-1447.
- 237.- Erikson, J., Williams, D.L., Finan, J., Nowell, P.C., Croce, C.M. (1985) "Locus of the split by chromosome translocation in T-cell leukemias". *Science*. 229:784-786.
- 238.- Lewis, W.H., Michalopoulos, E.E., Williams, D.L., Minden, M.D., Mak, T.W. (1985) "Breakpoint in the human T-cell antigen receptor alpha-chain locus in two T-cell leukemia patients with chromosomal translocations". *Nature*. 317:544-546.
- 239.- Finger, L.R., Harvey, R.C., Moore, R., Showe, L.C., Croce, C.M. (1986) "A common mechanism of chromosomal translocation in T and B-cell neoplasia". *Science*. 234:982-985.
- 240.- Hecht, F. (1988) "The fragile site hypothesis of cancer" (editorial). *Cancer Genet Cytogenet*. 31:119-121.
- 241.- Rowley, J.D. (1984) "Biological implications of consistent chromosome rearrangements in leukemia and lymphoma". *Cancer Res*. 44:3159-3168.
- 242.- Yunis, J.J. (1984) "Recurrent chromosomal defects are found in most patients with acute nonlymphocytic leukemia". *Cancer Genet. Cytogenet*. 11:125-137.
- 243.- Misawa, S., Hogge, D.E., Ogura, N., Wiernik, P.H., Tests, J.R. (1986) "Detection of clonal most patients with acute nonlymphocytic leukemia examined using short term culture techniques". *Cancer Genet Cytogenet*. 22:239-251.
- 244.- Prigogina, E.L., Fleichman, E.W., Puchkova, G.P., Mayakova, S.A., Volkova, M.A., Potasova, A.K., Frenkel, M.A. (1986) "Chromosomes in acute nonlymphocytic leukemia". *Human Genet*. 73:137-146.
- 245.- Fourth International Workshop on chromosomes in leukemia. 1982 (1984). "A prospective study of acute nonlymphocytic leukemia". *Cancer Genet Cytogenet*. 11:249-260.
- 246.- Second International Workshop on chromosomes in leukemia. (1980) *Cancer Res*. 40:4820-4827.
- 247.- First International Workshop on chromosomes in leukemia.

(1978). *Cancer Res.* 38:867-868.

248.- Rowley, J.D. (1981) "Association of specific chromosome abnormalities with type of acute leukemia and with patient age". *Cancer Res.* 41:3407.

249.- Yunis, J.J., Lobell, M., Arnesen, M.A., Oken, M., Mayer, M.G., Rydell, R.E., Brunning, R.D. (1988) "Refined chromosome study helps define prognostic subgroups in most patients with primary myelodysplastic syndrome and acute myelogenous leukemia". *Br.J.Haematology.* 68:189-194.

250.- Schiffer, C.A., Lee, E.J., Tomiyasu, T., Wiernik, P.H., Teata, J.R. (1989) "Prognostic impact of cytogenetic abnormalities in patients with de novo acute nonlymphocytic leukemia". *Blood* 73:263-270.

251.- Rowley, J.D., Aisen, G., Garson, O.H., Hogemeier, A., Mitelman, F., Prigogina, E.L. (1982) "A collaborative study of the relationship of the morphological type of ANLL with patient age and karyotype". *Blood.* 59:1013.

252.- Woods, W.G., Nesbit, M.E., Buckley, J., Lampikin, B.C., et al. (1985) "Correlation of chromosome abnormalities with patients characteristics, histologic subtype and induction success in children with acute nonlymphocytic leukemia". *J.Clinic.Oncol.* 3:3-10.

253.- Mecucci, C., VanOrshoven, A., Tricut, G., Michaux, J.L., Delannuy, A. & Vonden Berghe, H. (1986) "Trisomy 4: identifies a subset of acute nonlymphocytic leukemias". *Blood.* 67:1328-1332.

254.- Sandberg, A.A., Morgan, R., Sait, S.N.I., Berger, R., Flandring, G., Schreir, S. & Hecht, F. (1987) "Trisomy 4 an entity within acute nonlymphocytic leukemia". *Cancer Genet.Cytogenet.* (in press).

255.- Abe, S., Coulomb, H.M., Rowley, J.D., Mitelma, F., Sandberg, A.A. (1980) "Chromosomes and causation of cancer and leukemia. XXXV. The missing Y in acute nonlymphocytic leukemia (ANLL)". *Cancer.* 45:84-90.

256.- Holme, R., Kreating, M.J., Cork, A., Beach, Y., Trujillo, D. (1985a) "Loss of the Y chromosome in acute myelogenous leukemia: a report of 13 patients". *Cancer Genet.Cytogenet.* 17:269-278.

257.- Yunis, J.J., Brunning, R.D., Howe, R.E., Lobell, M. (1984), "High-resolution chromosome as an independent prognostic indicator in adult acute nonlymphocytic leukemia". *N.Engl.Med.* 311:812-818.

258.- Golosb, H.M. (1989). *Cancer Genet.Cytogenet.* 1:249-256.

259.- Kamada, N., Okada, K., Ito, T., Nokatsui, T., Uchino, H. (1968).

"Chromosome 21-22 and neutrophil alkaline phosphatase in leukemia". *Lancet*. 1:364.

260.- Rowley, J.D. (1973b). "Identification of a translocation with quinacrine-fluorescence in a patients with acute leukemia". *Ann.Genet.* 16:109-112.

261.- Pasquali, F., Casalone, R. (1981). "Rearrangement of three chromosomes (1,2,8 and 21) in acute myeloblastic leukemia". *Cancer Genet Cytogenet.* 3:335-339.

262.- Oyama, N., Misawa, S., Tenta, J.R. (1983) "A variant 8;21 translocation in acute myeloblastic leukemia". *Am.J.Hematol.* 15:391-396.

263.- Sakurai, M., Kaneko, Y., Abe, R. (1982). "Further characterization of acute myelogenous leukemia with t(8;21) chromosome translocation". *Cancer Genet.Cytogenet.* 6:143-152.

264.- Swirsky, D.M., Li, Y.S., Mattheus, J.G., Flewans, R.J., Rees, J.K.H., Hayhoe, F.G.J. (1984) "8;21 translocation in acute granulocytic leukemia: cytological, cytochemical and clinical features". *Br.J.Haematol* 56:199-213.

265.- Caimo, A., Parodi, C.M., DeFillippi, S., Rabitti, C., Cerri, R., et al. (1986) "A new chromosome translocation (8;21) in M2 acute lymphocytic leukemia". *Acta Haematolo.* 75:23-25.

266.- Billstrom, R., Nilsson, P.G., Mitelman, F. (1987). "Characteristic patterns of chromosome abnormalities in acute myeloid leukemia with Auer rods". *Cancer Genet.Cytogenet.* (in press).

267.- Diaz, M.O., Le Beau, M.M., Rowley, J.D., Drabkin, H.A., Patterson, D. (1985) "The role of the c-mos gene in the 8;21 translocation in human acute myeloblastic leukemia". *Science.* 229:767-769.

268.- Rosendorff, J., Bowcock, A.M., Kugl, J.M., Mendelow, B., Pinto, M.R., Bernstein, R. (1987) "Localization of the human c-mos gene by in situ hybridization in two cases of acute nonlymphocytic leukemia type M2". *Cancer Genet Cytogenet.* 24:137-141.

269.- Sacchi, N., Watson, D.K., Geourts K. et al. (1986) "Hu-ets-1 and hu-ets-2 genes are transposed in acute leukemias with (4;11) and (8;21) translocation". *Science.* 231:379-382.

270.- Coulomb, H.M., Rowley, J.D., Vardiman, J., Baron, J., Locker, G., Kanow, S. (1976) "Partial deletion of long arm of chromosome 17". *Arch.Inter.Med.* 136:825-828.

271.- Rowley, J.D., Coulomb, H.M., Dousherty, C. (1977a) "15/17 translocation a consistent chromosomal change in acute promyelocytic leukemia". *Lancet.* 1:549-550.

- 272.- Rowley,J.D., Coulomb,H.M., Vardiman,J., Fukurama,S., Dougherty,C., Potter,D. (1977b) "Further evidence for a non-random chromosomal abnormality in acute promyelocytic leukemia". *Int.J.Cancer*. 20:869-872.
- 273.- Scheres,J.G., Mustink,W., deVaam,A.M., Rutten,F.J. (1978). "15/17 translocation in acute promyelocytic leukemia". *Human.Genet.* 43:115-117.
- 274.- Berger,R., Bernheim,A., Daniel,M.T., Valensi,F., Flandi,G. (1983). "Cytological types of mitoses and chromosome abnormalities in acute leukemia". *Leukemia Res.* 7:221-236.
- 275.- Larson,R.A., Kando,K., Vardiman,J.W., Butler,A.E., Coulomb,H.M., Rowley,J.D. (1984) "Evidence for 15;17 translocation in every patient with acute promyelocytic leukemia". *Am.J.Med.* 76:827-841.
- 276.- Castaigne,S., Berger,R., Jolly,V. et al. (1984). "Promyelocytic blast crisis of chronic myelocytic leukemia with both t(9;22) and t(15;17) in M3 cells". *Cancer*. 54:2409-2413.
- 277.- Mitselna,F., Manolov,G., Manolova,Y. et al. (1986) "High resolution chromosome analysis of constitutional and acquired t(15-17) swaps c-erb A to subband 17q11.2". *Cancer Genet Cytogenet.* 22:95-98.
- 278.- Kaneko,Y., Humma,C., Masik,N., Sakura,M., Togashima,K., Yamamoto,T. (1987) "Human c-erb B2 remains on chromosome 17 in band q21 in the 15;17 translocation associated with acute promyelocytic leukemia". *JPN.J.Cancer Res.* 78:16-19.
- 279.- Dayton,A.J., Seldan,J.R., Laws,G., Dorney,D.J. 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.
- 280.- Sher,D., Sheppard,D.M., LeBeau,M.H., Rowley,J.D., Salomon,E. (1983) "Localization of the oncogene c-erba1 immediately proximal to the APL breakpoint on chromosome 17". *Ann.Hum.Genet.* 49:167-171.
- 281.- Arthur,D.C., Bloomfield,C.D. (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.
- 282.- Le Beau,M.H., Larson,R.A., Batten,M.A., Vardiman,J.W., Golowby,H.M., Rowley,J.D. (1983) "Association of an inversion of chromosome 16 with abnormal marrow eosinophilia in acute myelomonocytic leukemia". *N.Engl.J.Med.* 309:630-636.
- 283.- De la Chapelle,A., Lahtinen,R. (1983) "Chromosome 16 and bone marrow eosinophilia". *N.Engl.J.Med.* 309:1394.

- 284.- Testa, J.R., Hogge, D.E., Misaw, S., Jandpara, N. (1984). "Chromosome 16 rearrangements in acute myelomonocytic leukemia with abnormal eosinophilia". *N.Engl.J.Med.* 310:468-469.
- 285.- Le Beau, M.M., Diaz, M.O., Karin, M., Rowley, J.D. (1985) "Metallothionein gene cluster is split by chromosome 16 rearrangements in myelomonocytic leukemia". *Nature.* 313:709-711.
- 286.- Sandberg, A.A., Morgan, R., McCallister, J.A., Kaiser-McCaw, B., Hecht, F. (1983) "Acute myeloblastic leukemia (AML) with t(6;9)(p23;q24): a specific subgroup of AML?". *Cancer Genet Cytogenet.* 10:139-142.
- 287.- Schwartz, S., Tiji, R., Kerman, S., Meekins, I., Cohen, M.M. (1983) "Translocation (6;9)(p23;q24) in acute nonlymphocytic leukemia: a further case". *Cancer Genet.Cytogenet.* 10:133-138.
- 288.- Vermaelen, K., Michaux, J.L., Louwagie, A., VanDenBergho, H. (1983) "Reciprocal translocation (6;9)(p21;q33): a new characteristic chromosome anomaly in myeloid leukemias". *Cancer Genet Cytogenet.* 10:125-131.
- 289.- Fleichman, E.W., Proggina, E.L. et al. (1983) "Chromosomal rearrangement with a common breakpoint at 6p23 in five cases of myeloid leukemia". *Human.Genet.* 64:254-256.
- 290.- Pearson, M.G., Vardiman, J.W., LeBeau, M.M., Rowley, J.D. et al. (1985) "Increased numbers of marrow basophils may be associated with a t(6;9) in LMA". *Am.J.Hemat.* 18:393-403.
- 291.- Daniel, M.F., Bernheim, A., Flandri, G., Berger, R. (1985). "Leucemie aigue myeloblastique (M2) avec atteinte de la lignee basophile et anomalies du bras court du chromosome 12p". *C.R.Acad.Sci.* 301:299-301.
- 292.- Heim, S., Kristoffersson, U., Mandahl, V. et al. (1986). "High resolution banding analysis of the reciprocal translocation (6;9) in acute nonlymphocytic leukemia". *Cancer Genet.Cytogenet.* 22:195-201.
- 293.- Westbrook, C.A., LeBeau, M.M., Diaz, M.O., Graffen, J., Rowley, J.D. (1985) "Chromosomal localization and characterization of c-abl in the t(6;9) of acute nonlymphocytic leukemia". *Proc.Natl.Acad.Sci.USA.* 82:8742-8746.
- 294.- Nagarajan, L., Lousie, E., Tsujimoto, Y., Huebner, K., Croce, C.M. (1986) "Localization of the human pim oncogene to a region of chromosome 6 involved in translocations in acute leukemias". *Proc.Natl.Acad.Sci.USA.* 83:2556-2560.
- 295.- Bernstein, R., Pinto, M.R., Mendelow, B. (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.

296.- Sweet,D.L., Golcwb,H.M. Rowley,J.D., Vardiman,J.M. (1979). "Acute myelogenous leukemia and thrombocytosis associated with an abnormality of chromosome 3". Cancer Genet.Cytogenet. 1:33-37.

297.- Bitter,M.A., Neilly,M.E., LeBeau,M.M., Pearson,M.G., Rowley,J.D. (1985) "Rearrangements of chromosome 3 involving bands 3q21 and 3q26 are associated with normal or elevated platelet counts in acute nonlymphocytic leukemia". Blood. 66:1362-1370.

298.- Carroll,A.J., Poon,M.C., Robinson,N.C., Crist,W.M. (1986). "Sideroblastic anemia associated with thrombocytosis and a chromosome 3 abnormality". Cancer Genet.Cytogenet. 22:75-81.

299.- Pintado,T., Ferro,M.T., SanRoman,C., Mayayo,M., Larana,J.G. (1985) "Clinical correlations of the 3q21-q26 cytogenetic anomaly. A leukemic or myelodysplastic syndrome with preserved or increased platelet production and lack of response to cytotoxic drug therapy". Cancer. 55:535-541.

300.- Bernstein,R., Bagg,A., Pinto,M., Lewis,D., Mendelow,B. (1986) "Chromosome 3q21 abnormalities associated with hyperactive thrombopoiesis in acute blastic transformation of chronic myeloid leukemia". Blood. 68:652-657.

301.- Bloomfield,C.D., Garson,O.M., Volin,I., Knnulita,S. (1985). "t(1;3)(p36;q21) in acute nonlymphocytic leukemia: a new cytogenetic clinicopathologic association". Blood. 66:1409-1413.

302.-Mair,D.J., Jones,P.A.E., Pearson,J.J., Doncan,J.R., Cook,P., Buckle,U.J. (1984) "A new translocation (1;3)(p36;q21) in myelodysplastic disorders". Blood. 64:553-555.

303.- Cambrin,G.R., Mecucci,C., VanOrshaven,A., Tricot,G., VanDen Berghe,H. (1986) "Translocation (1;3)(p36;q21) in malignant myeloid stem cell disorders". Cancer Genet Cytogenet. 22:75-81.

304.- Scheres,J.M.C., Mustinx,T., Haasjes,J., Haanen,C. (1986). "Specific translocation (1;3) in acute myelomonocytic leukemia". Cancer Genet.Cytogenet. 22:69-73.

305.- Seligman,P.A., Butter,C.O., Massey,E.J., Kaur,J.A., Brown,J.P., Plowman,G.D., Miller,Y., Jones,C. (1986) "The p97 antigen is mapped to the q24-qter region of chromosome 3 the same region as the transferrin receptor". Am.J.Hum.Genet. 38:540-548.

306.- LeBeau,M.M., Diaz,M.O., Plowman,G.D., Brown,J.P., Rowley,J.D. (1986a) "Chromosomal sublocalization of the human p97 melanoma antigen". Human.Genet. 72:294-296.

307.- Pinto,M.R., King,M.A., Goss,G.D., Bezvoda,W.R. et al. (1985) "Acute megakaryoblastic leukaemia with 3q inversion and elevated thrombopoietin (TSF): an autocrine role for TSF?".

- 308.- Dela Vhappelle,A., Jnuutila,S., Eianen,S. (1986). "Translocation (2;11)(p21;q23) in acute non-lymphocytic leukemia: a non-random association". Scand.J.Haematol. 45:91-97.
- 309.- Sato,Y., Abe,S., Sasakin,M., Kanada,N. et al. (1987). "Reciprocal translocation involving the short arms of chromosomes 7 and 11, t(7p-;11p-), associated with myeloid leukemia with saturation". Blood. 70:1654-1658.
- 310.- Kaneko,Y., Maseki,N., Takasaki,N., Sakurai,M. et al. (1986) "Clinical and hematologic characteristics in acute leukemia with 11q23 translocations". Blood 67:484-491.
- 311.- Hagemeijer,A., Mahlen,K., Sizoo,W., Abele,J. (1982). "Translocation (9;11)(p21;q23) in three cases of acute monoblastic leukemia". Cancer Genet.Cytogenet. 5:95-105.
- 312.- Abe,R., Sandberg,A.A. (1984) "Significance of abnormalities involving chromosomal segments 11q22-25 in acute leukemia". Cancer Genet Cytogenet. 13:121-127.
- 313.- Cunes,A., Barbieri,D., Fenaresi,P., Castoldi,G.L. (1985). "A case of chronic myelogenous leukemia with 11q- in blast crisis with monoblastic differentiation". Nov.Rev.Fr.Hematol. 27:389-391.
- 314.- Caubet,J.F., Gagonne,A., Stehelin,D., Berger,R. (1986). "Localisation anonale du proto-oncogene c-ets 1 dans une leucemie aigue avec translocation (1;11)(q21;q23). C.R.Acade.Sci. 302:589-591.
- 315.- Diaz,M.O., LeBeau,M.M., Pitha,P., Rowley,J.D. (1986). "Interferon and c-ets-1 genes in the translocation (9;11)(p22;q23) in human acute monocytic leukemia". Science 231:265-267.
- 316.- Scheres,J.M., Mustink,T.W., Geraedts,J., Leekama,C., Maltzer,D. (1985) "Translocation 1;7 in hematologic disorders: a brief review of 22 cases". Cancer Genet.Cytogenet 18:207-213.
- 317.- Kurzrock,R., Shtali,M., Talpaz,M., Kloetzer,W.S., Outterman,J.V. (1987) "Expression of c-abl in Philadelphia-positive acute myelogenous leukemia". Blood. 70:1584-1588.
- 318.- Heim,S., Avanzi,G.C., Billstrom,R. et al. (1987) "A new specific chromosomal rearrangement, t(8;16)(p11;p13), in acute monocytic leukaemia". Br.J.Haematol. 66:323-326.
- 319.- Gramont,A., Louvet,C., Krulik,M., Smadja,N. et al. (1986). "Preleukemic changes in cases of nonlymphocytic leukemia secondary to citotoxic therapy". Cancer. 58:630-634.
- 320.- Gramont,A., Louvet,C., Krulik,M., Smadja,N. et al. (1986). "Preleukemic changes in cases of nonlymphocytic leukemia



secondary to cytotoxic therapy". *Cancer*. 59:630-634.

321.- Hozier, J.C., Linquist, L.L. (1980) "Banded karyotypes from bone marrow: a clinical useful approach". *Human Genet.* 53:205-209.

322.- Wang, P.J. (1989) "Ring chromosome in a case of acute myelomonocytic leukemia: its significance and review of literature". *Hematol. Pathol.* 1:57-65.

323.- Manolov, G., Manolova, Y. (1973) "Marker band in one chromosome 14 from Burkitt lymphomas". *Nature*. 237:33-34.

324.- Zech, L., Naglund, U., Nilsson, K., Klein, G. (1976). "Characteristic chromosomal abnormalities in biopsies and lymphoid-cell lines from patients with Burkitt lymphomas". *Int. J. Cancer*. 17:47-56.

325.- Zhang, S., Zech, L., Klein, G. (1982) "High-resolution analysis of chromosome markers in Burkitt lymphoma cell lines". *Int. J. Cancer*. 29:153-157.