

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

TESIS DOCTORAL

ALTERACIONES CROMOSOMICAS EN LEUCEMIAS
LINFOBLASTICAS AGUDAS

Autor : CARLOS SAN ROMAN COS-GAYON

Director : PROF. DOMINGO ESPINOS

Madrid 1992

A mis padres

A Cristina, Blanca y Nicolás

INFORME DEL DIRECTOR DE LA TESIS

D. DOMINGO ESPINOS PEREZ. CATEDRATICO DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA, FACULTAD DE MEDICINA DE LA U.C.M.

INFORMA: Como director de la Tesis, considero que el Trabajo de de la Tesis Doctoral de D. Carlos San Román, titulado: "Alteraciones cromosómicas en leucemias linfoblásticas" es apto para ser leído y defendido en público

V.º B.º
EL TUTOR(2)

El Director de la Tesis

Fdo.: _____

(fecha y firma)

N.I.F.:

Fdo. Prof. Dr. D. ESPINOS PEREZ

(fecha y firma)

N.I.F.:

INFORME DEL CONSEJO DE DEPARTAMENTO

DR. D. CARLOS PEREZAGUA CLAMAGIRAND, DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA DE LA FACULTAD DE MEDICINA. U.C.M.

INFORMA: Que una vez examinado el Trabajo presentado por D. CARLOS SAN ROMAN COS-GAYON, titulado: "ALTERACIONES CROMOSOMICAS EN LEUCEMIAS LINFOBLASTICAS", dirigido por el Prof. D. Domingo Espinós Pérez, este Departamento dá su conformidad para que dicho trabajo sea leído y defendido en público con vistas a su aprobación como Tesis Doctoral.

Fecha reunión
Consejo Departamento

26 de Junio de 1.992

El Director del Departamento

Fdo. Dr. Carlos Perezagua

(fecha y firma)

26-6-1992

AGRADECIMIENTOS

Al Prof. ANDRES SANCHEZ CASCOS y a la FUNDACION JIMENEZ DIAZ, promotores de mi andadura por los caminos de la genética humana.

Al Prof. DOMINGO ESPINOS, Director, amigo y conciencia de la realización del trabajo necesario para obtener el Doctorado.

A la Dra. MARIA TERESA FERRO DELGADO, motor de los trabajos de investigación en las hemoblastosis, sin cuya ayuda hubiera sido imposible la realización de la presente Tesis Doctoral.

Al Servicio de Genética Médica del Hospital Ramón y Cajal :
María Teresa Sordo, Alicia Quintana, Pilar Ferrando, Concepción Estévez, Jose Miguel García Sagredo, Pilar Jiménez, Julia Prieto, Carmina Madruga, Socorro Lozano, Esperanza Pastor, Isabel Criado del Rey y Charo Hernáez por su desinteresada y constante ayuda.

I- INTRODUCCION

A- BASE GENETICA DEL CANCER	1
B- HISTORIA DE LA CITOGENETICA	2
C- ANOMALIAS CITOGENETICAS EN EL CANCER	8
D- UN MODELO DE DAÑO CROMOSOMICO, LA TRANSLOCACION 8;14	12
E- PATOLOGIA LINFOIDE	15
F- LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA	16
1- Concepto	
2- Citogenética de la leucemia aguda linfoblástica	
3- Análisis de los marcadores específicos en la leucemia aguda linfoblástica	
3.1- 14q+	
3.2- Cromosoma Philadelphia	
3.2.1- Cromosoma Ph en LLA	
3.3- t(11;14)(p13;q11) y t(11;14)(q23;q32)	
3.4- t(4;11)(q21;q23)	
3.5- t(1;19)(q23;p13.3)	
4- Deleciones en la LLA	
5- Anomalías numéricas en la LLA	
G- LOS RESULTADOS CITOGENETICOS COMO FACTOR PRONOSTICO EN LA LLA	25
H- ANALISIS COMPARATIVO DE LAS ANOMALIAS CITOGENETICAS EN LOS PROCESOS LINFOPROLIFERATIVOS	27
I- LOCALIZACION CROMOSOMICA DE ONCOGENES EN LAS ENFERMEDADES LINFOIDES	28

II- PROPOSITO DEL TRABAJO 30III- MATERIAL Y METODOS 33

A- NUMERO DE PACIENTES Y PROCEDENCIA	
B- CLASIFICACION HEMATOLOGICA	
C- ESTUDIOS CITOGENETICOS	34
1- Tejido utilizado	
2- Recogida de la muestra	
3- Métodos utilizados para el cultivo de médula ósea con la finalidad de obtener cromosomas en metafase	

4- Técnicas empleadas para la obtención de cromosomas

- 4.1- Reactivos
- 4.2- Preparación del método de cultivo
- 4.3- Técnica del método directo
- 4.4- Técnica de cultivos de corto tiempo(24 y 48 horas)
- 4.5- Técnica de cultivo utilizando sobrenadante derivado de cultivo de fibroblastos
- 4.6- Técnica de sincronización cromosómica
- 4.7- Técnica del cultivo de linfocitos de sangre periférica y de médula ósea usando como estimulante Phitohemaglutinina
- 4.8- Técnica de cultivo de linfocitos de sangre periférica y médula ósea con estimulantes de células B

5- Técnicas de identificación cromosómica por bandas

- 5.1- Técnica de bandas G
- 5.2- Técnica de bandas Q
- 5.3- Técnica de bandas C

6- Análisis microscópico

D- CRITERIOS PARA LA VALORACION DEL ANALISIS CITOGENETICO 47

E-APENDICE. NOMENCLATURA 49

IV- RESULTADOS 53

A-ANALISIS GENERAL DE LOS DATOS

B-ESTUDIOS CITOGENETICOS

C-INCIDENCIA DE ANOMALIAS 54

D-DESCRIPCION DEL CARIOTIPO 56

E-CLASIFICACION CROMOSOMICA DE LOS CASOS PATOLOGICOS 70

F- TIPO DE ANOMALIAS CROMOSOMICAS 71

G- ANOMALIAS CLONALES 73

1- Cromosomas implicados

2- Anomalías estructurales

2.1- Translocaciones

2.2- Deleciones

2.3- Otras anomalías estructurales

H- PUNTOS DE ROTURA CROMOSOMICA EN EL TOTAL DE LA SERIE 76

I- EVOLUCION DEL CARIOTIPO POSTRATAMIENTO QUIMIOTERAPICO 77

J- EVOLUCION DEL CARIOTIPO POSTRASPLANTE DE MEDULA OSEA 78

K- DIFERENCIA EN LOS RESULTADOS SEGUN EL METODO UTILIZADO 79

L- ANOMALIAS CONSTITUCIONALES	79
M- TRANSLOCACIONES ESPECIFICAS	80
N- ANOMALIAS CROMOSOMICAS UNICAS	83
<u>V- DISCUSION</u>	
A- ANALISIS DE LOS RESULTADOS	122
B-PUNTOS DE ROTURA DE LOS CROMOSOMAS	124
C- TRANSLOCACIONES ESPECIFICAS	125
1- Cromosoma Philadelphia y variantes	
2- Translocación 4;11	
3- Translocación 8;14	
4- Translocación 11;14	
D- TRANSLOCACIONES ENTRE CROMOSOMAS HOMOLOGOS	134
E- OTRAS TRANSLOCACIONES	137
F- ANOMALIAS ESTRUCTURALES RELACIONADAS CON LA LLA	138
1- 14q+	
2- 9p	
3- 6q-	
4- 11q23	
G- ANOMALIAS NUMERICAS RELACIONADAS CON LA LLA	142
1- Trisomía 3 y trisomía 8	
2- Otras trisomías	
3- Hiperdiploidía de > 50 cromosomas	
H- ANOMALIAS ESTRUCTURALES NO RELACIONADAS CON LA LLA	145
1- Inversiones	
2- Isocromosomas	
3- Cromosomas en anillos	
4- Microcromosomas y DMS	
5- Deleciones	
I- CITOGENETICA DE LOS PROCESOS LINFOPROLIFERATIVOS T	153
J- CITOGENETICA DE LOS CASOS SOMETIDOS A TRASPLANTE DE MEDULA OSEA	155
K- ANOMALIAS CONSTITUCIONALES	157
L- LEUCEMIA CONGENITA	160

M- DIFERENCIAS EN LOS RESULTADOS OBTENIDOS SEGUN EL TIPO DE CULTIVO REALIZADO	161
N- EVOLUCION DEL CARIOTIPO A TRAVES DEL PROCESO LEUCEMICO	163
Ñ- ANOMALIAS DEL PAR SEXUAL	165
<u>VI- CONCLUSIONES</u>	167
<u>VII- BIBLIOGRAFIA</u>	170

I. INTRODUCCION

.....quiero proponer el nombre "cromosoma", para aquellas formaciones que fueron llamadas por Boveri "elementos cromáticos", en las cuales ocurre uno de los actos mas importantes de la cariocinesis: la división longitudinal....

W.Waldeyer

A.- BASE GENETICA DEL CANCER

Varios son los caminos que han conducido, a lo largo de muchos años de investigación, primero a sospechar y posteriormente a confirmar, que en la célula cancerosa se produce una alteración de la dotación genética del individuo.

Un hecho que no ofrece dudas es la existencia de la correlación entre la mutación de una célula germinal y la presencia de malformaciones. Tampoco ofrece dudas actualmente pensar que allí donde aparece un proceso maligno, existe una mutación previa de la célula somática que lo padece.

Las alteraciones cromosómicas que se encuentran en los tumores confirman este pensamiento, enunciado ya por Boveri en el siglo pasado.

Estas anomalías cromosómicas ofrecen una gran diversidad en los distintos tipos de tumores, aunque suelen ser iguales en las células de un mismo tumor. Cuando existen diferencias entre ellas, la mayoría de las veces se trata de cambios evolutivos de la línea primitiva.

La relación entre cromosomopatía y neoplasia es difícil de precisar, planteándonos aún toda clase de interrogantes sobre los pasos intermedios que intervienen en el desarrollo de la carcinogénesis. La hipótesis más frecuentemente enunciada parece dirigirse hacia la creencia de que el impacto causado por agentes cancerígenos (factores químicos, radiaciones y virus) produce roturas cromosómicas, las cuales se combinan produciendo nuevas estructuras o reajustes de los cromosomas. Se piensa también que la reorganización cromosómica resultante, confiere a la célula (o a su progenie) una ventaja selectiva hacia la proliferación celular.

La convicción de que existe una base genética, que favorece la transformación de una célula normal en cancerosa, ha cobrado importancia en época reciente mediante el hallazgo de determinados genes que desempeñan un papel específico en el desarrollo de las neoplasias: los oncogenes.

B.- HISTORIA DE LA CITOGENETICA

A finales del siglo pasado, algunos investigadores llamaron la atención sobre las anomalías cromosómicas presentes en los tumores. Arnold en 1879, advirtió que los tejidos malignos presentaban con frecuencia irregularidades en la mitosis. En un primer momento, se valoraron estas irregularidades como posibles factores etiológicos de la enfermedad neoplásica, relacionandolas con las alteraciones características de los procesos de proliferación celular, avanzando ya la idea de que podían ser un dato útil a la hora de determinar los estados de malignidad tisular. Es destacable la obra de David von Haseman (1890) en estudios realizados

sobre biopsias de carcinomas, al observar una distribución desigual de la cromatina en las células resultantes de la división celular.

La hipótesis de que una distribución desigual de la cromatina, consecuente a mitosis asimétricas, pudiera ser la causa del crecimiento desordenado de las células cancerosas, fué desarrollado por Theodor Boveri quien en 1914 publica sus famosas teorías sobre el cáncer. El punto de partida de sus planteamientos se sitúa en la idea de que los cambios experimentados por las células son el producto de una mutación, llegando a apuntar - ya en época tan temprana- que es en los cromosomas, donde debe buscarse la causa de las transformaciones malignas que convertirán la célula normal en una célula patológica. Los aspectos fundamentales de su teoría podrían resumirse en las ideas siguientes: 1) los cambios del genoma vienen causados por la acción de agentes exógenos, aunque en los tumores hereditarios existe una predisposición antecedente; 2) los tumores tienen un origen monoclonal y sus características citológicas vienen a expresarse en correlativos cambios cromosómicos; 3) los cambios experimentados por la función cromosómica pueden determinar una alteración en la diferenciación celular, dando lugar a un tejido distinto del original.

Boveri aparece como el gran precursor de las teorías genéticas del cáncer y a él se le ocurre también la idea de la existencia de determinadas "unidades hereditarias", localizadas en los cromosomas donde se mantienen en equilibrio, siendo dicho equilibrio un factor absolutamente indispensable para el buen funcionamiento celular.

El avance que esta doctrina representó respecto a la ciencia de su tiempo no pudo valorarse convenientemente hasta mucho después, ya que en los años sucesivos fracasaron todos los intentos dirigidos a conocer la auténtica constitución cromosómica del individuo.

El avance y llegada de nuevos conocimientos se situa en 1956, fecha en la que Tjio y Levan, cultivando tejido pulmonar fetal, describen el número cromosómico de nuestra especie como de 46 cromosomas.

Los pasos siguientes tienen un valor metodológico o instrumental y, entre ellos, destacan aquellos que favorecieron la obtención de cromosomas fácilmente analizables : por un lado se advierte que añadiendo colchicina a los cultivos celulares, estos paralizan la división de la célula en metafase; por otro se comprueba que tratados dichos cultivos con soluciones hipotónicas, se consigue liberar a los cromosomas de la matriz citoplásmica y, finalmente, en el año 1960, se descubre por Hungerford y cols. una sustancia -la Phitohemaglutinina- que añadida a los cultivos de sangre periférica, viene a estimular la división de los linfocitos. Todos estos descubrimientos son fundamentales para el desarrollo de la citogenética y su aplicación clínica.

El mismo año 1960 trae uno de los descubrimientos citogenéticos más relevantes al describirse la primera anomalía constante en una neoplasia: se trata del cromosoma Philadelphia, denominado así en honor a la ciudad en la que fué descubierta esta alteración por Nowell y Hungerford. En ese momento se describe como un cromosoma del grupo G de menor tamaño, pero no se conoce todavía si su

aparición es debida a una deleción o a una translocación.

El descubrimiento de este cromosoma anormal coincide con el inicio de toda una serie de ensayos que se orientan al reconocimiento y ordenación de cada cromosoma. El primer intento tiene lugar en Denver ese mismo año, en una reunión de la que saldrá un criterio que ordena los cromosomas según su tamaño y la posición de su centrómero.

Como se deduce de lo anteriormente expuesto, el descubrimiento del cromosoma Philadelphia es paralelo al comienzo de la citogenética humana y por ello no debe de sorprender que no fuera seguido de progresos importantes. El avance posterior resulta lento y han de pasar aún varios años, antes de poder ver la importancia o la relación de puede tener la citogenética en el cáncer.

La aparición del cromosoma Philadelphia, constituye el primer testimonio de que las teorías de Boveri son una realidad y, con éllo, se inaugura la primera etapa de los estudios cromosómicos en el cáncer, que desde el punto de vista cronológico se situa entre los años 60 y 70. Es sin embargo esta, una etapa escéptica en la que la opinión generalizada piensa que las anomalías cromosómicas advertidas en quienes padecen la enfermedad son hechos meramente casuales, sin ninguna relación con el proceso neoplásico. A esta opinión negativa contribuye, de una parte, el advertir que desde el punto de vista citogenético unos pacientes parecían normales mientras otros se manifestaban como patológicos, y de otra, -colaborando también a ese rechazo de cualquier correlación entre las anomalías cromosómicas y cáncer-

la comprobación de que el patrón al que respondían las posibles alteraciones cromosómicas resultaba extraordinariamente variable (Levan y cols. 1977; Sandberg 1980,1990). Como datos constantes y que sugieren una efectiva interrelación, solo permanecen en ese tiempo la presencia del cromosoma Philadelphia en la leucemia mieloide crónica y la aparición de una característica monosomía del cromosoma 22 en el meningioma (Zang y Singer 1967; Mark 1970).

A partir de los años 70, asistimos a una rápida evolución en todos los campos de la citogenética coincidiendo con el descubrimiento de nuevas técnicas que permiten, no solo identificar cada cromosoma e igualarlo con su pareja, sino que ponen de manifiesto también, la existencia de pequeñas alteraciones que no era posible identificar anteriormente.

La primera de las técnicas de identificación cromosómica es la descrita por Casperson (1970), basada en la tinción diferencial de los brazos de los cromosomas con sustancias fluorescentes. Aplicando estos nuevos métodos de laboratorio al estudio de los tumores se observa que las conclusiones del primer momento no eran correctas. En la segunda etapa, se empieza a advertir que existen leucemias y linfomas relacionadas con anomalías concretas, comenzándose a intuir que, tanto las anomalías cromosómicas que afectan al número, como aquellas que afectan a la estructura, no ocurren al azar (Rowley y Testa 1982). Se llega a precisar que el 50% de los enfermos con leucemia aguda tienen anomalías cromosómicas en la célula leucémica.

Una tercera etapa se sitúa con el inicio de las denominadas técnicas de alta resolución, basadas en la sincronización de la división celular para obtener el mayor número de células en prometafase. Su descubrimiento se debe a Yunis y en el año 1976, esas técnicas van a permitir observar mínimas anomalías que con métodos convencionales no se podían observar.

La cuarta etapa se produce con la reciente introducción de las técnicas moleculares que permiten averiguar la presencia, localización y activación de genes; en este caso, de los genes relacionados con el cáncer u oncogenes. De su conocimiento se va a desprender una amplia información, tanto a nivel teórico como práctico, en el terreno del cáncer. (Goldman 1985, Hall 1987, Heim y Mitelman 1987).

Los avances logrados por la tecnología molecular han permitido conocer como regulan el crecimiento y la diferenciación las células normales, así como el descontrol y multiplicación de las células anormales. Consecuente a estos avances aparecen los conceptos de : "proto-oncogen", gen celular normal que controla el crecimiento, desarrollo y diferenciación celular y el de "oncogen", fallo o mutación de los proto-oncogenes, que conduciría al desarrollo de la célula cancerosa (Burk K.B., Lui E.T. y Larrick J.W. 1988).

Es, por tanto, el término oncogen, la palabra acuñada para definir al gen capaz de producir cáncer (Teich N.M., 1991) y el cáncer, puede definirse como la aparición progresiva de sucesos genéticos que ocurren en un clon celular, motivado por las alteraciones de unos genes específicos : los oncogenes. La asociación de alteraciones cromosómicas permanentes con

particulares tipos de cáncer, han conducido a la identificación de algunos de estos genes y a la sospecha de sus mecanismos de acción. Un proto-oncogen puede convertirse en un oncogen por una gran variedad de procesos submicroscópicos, como mutaciones puntuales, inserciones o mínimas deleciones y reajustes de regiones cromosómicas que pueden observarse citogenéticamente como translocaciones o inversiones (Sheer 1991, Solomon y cols.1991).

El descubrimiento de translocaciones, inversiones, deleciones etc..., no es un proceso que haya llegado a su fin. Las revisiones más amplias hasta el momento sobre cromosomas y neoplasias son las efectuadas por Sandberg en 1980 y 1990, así como las de Mitelman en 1985 y 1990, junto a los datos recogidos en las reuniones internacionales sobre este tema, entre los años 1979-1985.

C.- ANOMALIAS CITOGENETICAS EN EL CANCER

Todos los cromosomas pueden verse involucrados en la patología neoplásica no obstante, ciertos cromosomas y dentro de estos, determinadas regiones, se ven asociadas a distintos tipos de tumores.

Las anomalías cromosómicas pueden afectar al número y/o a la estructura.

Las anomalías numéricas pueden ser por ganancia de cromosomas, lo que produce trisomías, tetrasomías, pentasomías, polisomías en general, o por pérdida de cromosomas, lo que produce monosomías.

Las alteraciones que afectan a la estructura del cromosoma pueden ser, en el cáncer, de todos los tipos conocidos: deleciones, translocaciones, inversiones, anillos... Todas, salvo los isocromosomas, van a tener como base la rotura cromosómica.

Un aspecto de interés es que no todas las alteraciones tienen el mismo significado. Existen unos cambios que se pueden considerar primarios, en relación con el origen de la enfermedad y otros a los que se les considera secundarios, producidos por la terapia utilizada o por la propia progresión de la célula cancerosa.

Cual es el mecanismo, mediante el cual, los factores mutagénicos ambientales ó los factores genéticos predisponentes hacen que se produzcan determinadas alteraciones, es todavía un terreno no comprensible a pesar de los estudios que existen sobre el tema. Lo que sí parece claro es que los cambios cromosómicos que tienen lugar en la célula neoplásica no son al azar, incluso aquellos que hoy se consideran secundarios.

Sobre este último tema destaca el estudio efectuado por Mitelman en 1986, en el que revisa 5.345 casos de cáncer con estudios citogenéticos. Busca los casos con una única anomalía y selecciona aquellos en los que, por lo menos esta única anomalía, se encuentra en 2 tumores con morfología similar. Encuentra 77 anomalías que reúnen estas características correspondientes a 161 puntos de rotura y estos 161 puntos, se sitúan en solo 83 bandas, lo que representa 1/4 del cariotipo humano. Destaca posteriormente la importancia de estas alteraciones cromosómicas, al comprobar que alguna de

estas 83 bandas participan en el 96% de los casos con cariotipos complejos.

Las anomalías cromosómicas de neoplasias similares pueden tener una variación geográfica. Esta variación puede ser real, quizás en relación con determinados factores genéticos o ambientales, o puede que sea exclusivamente un reflejo de las diferencias tecnológicas entre los laboratorios. De estas consideraciones se desprenden dos aspectos destacables: 1) la importancia de los agentes mutagénicos y 2) la predisposición genética en el terreno del cáncer.

Ambos conceptos, mutagénesis y herencia, pueden encontrarse unidos apoyando la teoría de Knudson de la doble mutación (Knudson 1973). En lo que se refiere a la predisposición genética varios son los puntos de análisis que tienen interés:

- 1) Los síndromes de inestabilidad cromosómica
- 2) La agregación familiar de determinados cánceres.
- 3) Los cánceres hereditarios.
- 4) Los cromosomas frágiles.

Es un hecho -sobradamente conocido- la predisposición de los enfermos que presentan los llamados síndromes de inestabilidad cromosómica, conocidas y raras enfermedades hereditarias (Síndrome de Bloom, Anemia de Fanconi etc...) para padecer cáncer, especialmente leucemia. (German 1974; Mulvihill y cols. 1977; Hecht y Mc Caw 1977; Schroeder-Kurth T.M. y cols. 1989).

También es conocida, la presencia de un determinado tumor o de diferentes tumores en una misma

familia. Generalmente, la presencia de un mismo tumor en una familia indica una herencia autosómica dominante para esta enfermedad, como es el caso de la poliposis cólica. Por otro lado, como acabamos de mencionar, hay familias con una predisposición especial para el cáncer, formando parte de lo que se conoce como "agregación familiar". Se piensa en estas familias si no se habrá producido en ellas, la unión de sus características genéticas con las características de su entorno o costumbres.

Dentro de este contexto de la base genética del cancer, aparecen recientemente dos temas de gran interés, relacionados directamente con la constitución cromosómica del individuo. Nos referimos en primer lugar, tanto al retinoblastoma como al tumor de Wilms, en los que se han encontrado anomalías constitucionales consistentes, en una delección del cromosoma 13 en el retinoblastoma o del cromosoma 11 en el tumor de Wilms y, en segundo lugar, a la existencia de otra anomalía constitucional o variante polimórfica de reciente aparición, los denominados "puntos frágiles", de los que aún no se sabe con certeza si juegan algún papel en la carcinogénesis, aunque existan algunos indicios que permitan sospecharlo.

Los puntos frágiles de los cromosomas, constituyen un hecho apasionante e incierto dentro de la citogenética que ha permanecido oculto hasta fechas recientes sin la atención pertinente.

Se caracterizan estos puntos frágiles por ser zonas cromosómicas con tendencia a la rotura; aparecen como discontinuidades de la estructura y se aprecian por la presencia de fragmentos acéntricos o de

diversas figuras (trirradiales o cuadrirradiales), siguiendo todos ellos un patrón hereditario.

Aunque generalmente se consideran variantes sin repercusión clínica (Sutherland y Hecht 1985), hay en la literatura casos en los que se ha observado su asociación con patología constitucional (García-Sagredo y San Román, 1983) o neoplásica (Yunis and Soreng 1984, Le Beau 1986, San Román y cols.1990).

D.- UN MODELO DE DAÑO CROMOSOMICO, LA TRANSLOCACION 8;14.

Las anomalías cromosómicas que se producen en el cáncer, presentan diferentes consecuencias a nivel de la dotación genética de la célula afectada.

Es clara la pérdida de material genético en casos de monosomías y deleciones o la ganancia de este material en el caso de trisomías y duplicaciones. Los cambios que se producen en casos de reajustes estructurales tienen otro significado, al dar lugar a distintos tipos de reordenamiento de este material.

Un modelo de los cambios que ocurre en estos reajustes estructurales lo constituye la translocación, que en el caso de la serie linfoide se ve representada por la translocación 8;14.

En 1972 Manolov y Manolova describieron un cromosoma 14 que exhibía material extra en sus brazos largos y que fué denominado como 14q+ en 5 linfomas de Burkitt.

Zech y cols. encontraron que este 14q+ del linfoma de Burkitt, se produce por un mecanismo de translocación entre los brazos largos de los cromosomas 8 y 14, con puntos de rotura en la banda q24 del cromosoma 8 y en la banda q32 del cromosoma 14. Manolova en 1979, con la aplicación de técnicas más precisas, encontró que la translocación es recíproca, es decir, se produce el intercambio de material entre ambos cromosomas.

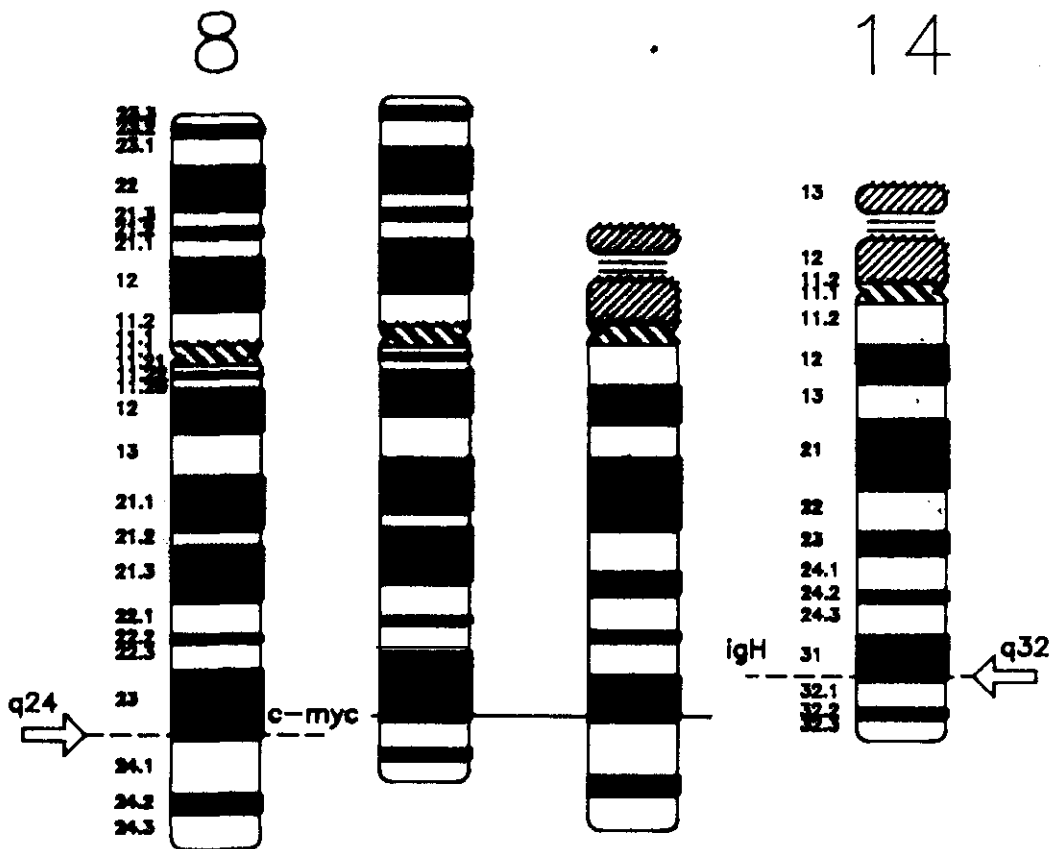
Esta translocación se presenta en aproximadamente el 80-85% de los linfomas de Burkitt. En el resto de los casos aparecen diversas variantes : la translocación (8;22)(q24;q11) y la translocación (2;8)(p12;q24). Todas estas translocaciones presentan un hecho en común, consistente en la participación constante de la banda q24 del cromosoma 8.

Los conocimientos a nivel molecular explican este hecho y muestran que el mismo no es derivado de la casualidad. El oncogén c-myc se localiza en 8q24 y se transloca a los otros cromosomas que forman parte del reajuste. Los puntos de rotura de los cromosomas 2 , 8 y 14 tienen una significación común, en ellos se encuentran localizados los loci que controlan las cadenas de las inmunoglobulinas humanas. El c-myc, al cambiar de lugar, pasa a depender del promotor del gen de las inmunoglobulinas que se caracteriza por una gran actividad. El c-myc, previsiblemente, pasa a transformarse de un gen inactivo en un gen con expresión.

De esta manera, vemos como una translocación cromosómica que aparece en un tumor, puede dar lugar a que se produzca la aproximación entre unos genes

implicados en el desarrollo celular con otros genes importantes para la función de la célula alterada.

TRANSLOCACION $t(8;14) (q24;q32)$



E.- PATOLOGIA LINFOIDE.

El estudio del linfocito ha despertado el interés de muchos investigadores en el terreno de las ciencias biomédicas. Este interés se extiende desde terrenos muy estudiados, como pueden ser los de la morfología linfocitaria, hasta los mas recientes descubrimientos en el campo de la inmunología, junto a los espectaculares avances que se observan diariamente en el campo de la genética.

Varios son los aspectos, que tratando de definirse en la patología linfocitaria, han conducido a sucesivas series de clasificaciones de la "enfermedad linfoide". En unas de ellas, se ha considerado como dato esencial la morfología; en otras, se han tenido en cuenta las actividades inmunológicas de la célula proliferante; en último lugar, se han agregado a ellas los estudios citogenéticos y, hoy en día, es ya necesario reunir las características morfológicas, citoquímicas, inmunológicas e histopatológicas de estos procesos.

Dentro de la patología linfoide, se diferencian claramente aquellos casos que se presentan como una leucemia aguda (las leucemias agudas linfoblásticas o las enfermedades linfoproliferativas crónicas) de aquellos otros en los que la enfermedad adquiere forma tumoral (los linfomas).

F.- LEUCEMIA LINFOBLASTICA AGUDA

1) Concepto

La leucemia linfoblástica aguda (LLA) es una neoplasia hematológica caracterizada por la proliferación y acumulación de células linfoides inmaduras. La LLA es más frecuente en la infancia y en los enfermos jóvenes.

Basados en criterios morfológicos, la FAB (French-American-British morphological classification, 1976) clasifica la LLA en tres grupos : L1, L2, L3. La más frecuente es la L1 y la menos frecuente la L3. La L1 es el tipo más común en niños mientras que la L2 lo es más en adultos. Tanto en la L1 como en la L2 puede haber marcadores de células B o T, o puede no presentar marcadores definidos: las denominadas no T no B o de células nulas. La distinción entre la L1 de características uniformes con células pequeñas y la L2, más heterogénea, es mucho más subjetiva que la diferenciación de la L3.

La leucemia linfoblástica aguda tipo L3 presenta unas células iguales al linfoma de Burkitt, siendo característico en ella el citoplasma vacuolado basofílico. Es de presentación rara (un 2% de las leucemias agudas) e inmunológicamente, presenta marcadores de células B en la mayoría de los casos.

En base a los conocimientos morfológicos, inmunológicos y citogenéticos aparece una nueva clasificación: la clasificación MIC (First MIC report 1986).

2) Citogenética

Las revisiones más amplias sobre las alteraciones citogenéticas en la LLA se hacen en el Tercer Workshop sobre cromosomas y leucemias, que tuvo lugar en el año 1981 con la revisión de 330 LLA (173 adultos y 157 niños) y el trabajo de Uckun F.M. y cols. en el año 1989, donde revisan 104 LLA.

El 65% de los casos -en la revisión del Tercer Workshop- presentaban anomalías cromosómicas, apareciendo como más frecuentes las de tipo estructural. Las principales anomalías de este tipo fueron la translocación 9;22 (17,9%); la translocación 4;11 (8,2%); la translocación 8;14 (7,3%); el 14q+ (6,9%) y la delección de los brazos largos del cromosoma 6 (6,0%). En el resto de las series revisadas (Bloomfield y cols, 1977,1980; Sandberg y cols, 1980,1990; Van den Berghe y cols, 1979; Arthur y cols, 1982; Berger y cols, 1979; Kaneko y cols, 1982; Jackson y cols, 1982; Morse y cols, 1983; Clarkson y cols, 1985; Uckun y cols, 1989), la proporción de casos anormales varió entre un 60 % y un 70 % , siendo las alteraciones mas frecuentes comunes a las del Workshop.

3) Análisis de los marcadores específicos

3.1 14q+

Dentro de la patología del cromosoma 14 hay que separar la translocación 8;14, característica de la " enfermedad de Burkitt" (leucemia o linfoma).

Las leucemias linfoblásticas agudas tipo Burkitt, portadoras de la translocación 8;14, aparecen con más frecuencia en varones. La mayoría presentan morfología de L3 y son proliferaciones de células B. Los puntos de rotura de los cromosomas 8 y 14 son iguales a los que ocurren en el linfoma de Burkitt: 8q24 y 14q32. También en ella se han descrito las variantes de esta translocación que tienen lugar en el linfoma: la translocación 2;8 y la translocación 8;22.

La igualdad citogenética de ambas enfermedades constituye un fuerte argumento, en apoyo de que se trate del mismo proceso con diferente manifestación.

El 14q+, consecuencia de muy diversas translocaciones, se asocia con leucemias de células B; con aquellas de fenotipo pre-B y También se ha visto en algunos casos de células T (Kaneko y cols. 1980).

3.2 Cromosoma Philadelphia

En 1960 Nowell y Hungerford describen un pequeño cromosoma del grupo G asociado a un tipo de leucemia: la leucemia mieloide crónica. Aunque constituyó desde el principio, la alteración citogenética más constante asociada a una enfermedad tumoral, debieron transcurrir muchos años antes de que se comenzara a entender su significado. En los años 60, aún no se podía distinguir si se trataba de un cromosoma 21 ó un cromosoma 22.

En 1970, Prieto y cols. descubren que el pequeño cromosoma Philadelphia (Ph) se corresponde con un cromosoma 22 aparentemente delecionado. En 1971, O'Riordan y cols. lo confirman con técnicas

fluorescentes. En 1973, Rowley determina el origen del cromosoma Ph, demostrando que este cromosoma no es la consecuencia de una deleción como se venía pensando sino de una translocación que se produce entre los cromosomas 9 y 22, con puntos de rotura en q34 y q11. Con posterioridad a este descubrimiento, por mediciones del DNA, se aprecia que la translocación es recíproca y que por tanto, en ella, no se pierde material (Mayal y cols.1977).

Los polimorfismos cromosómicos que aparecen en este cromosoma, vienen a confirmar una de las primeras teorías de Boveri : el origen monoclonal de las neoplasias. Se pudo demostrar el origen monoclonal de esta enfermedad a través del estudio del polimorfismo del cromosoma Philadelphia.

A la clásica translocación 9;22 t(9;22)(q34;q11), le surgieron dos tipos de variantes (Hayata y cols. 1975) : una simple, en la que participan el cromosoma 22 y otro cromosoma diferente al 9, y otra compleja, en la que participan los cromosomas 9, 22 y otro u otros cromosomas.

Existe otra alteración diferente, en la que el cromosoma Philadelphia, en lugar de ser reducido es de mayor tamaño, debido a que el cromosoma 22 acumula material extra de otro cromosoma -al contrario de lo habitual- recibiendo entonces el nombre de Philadelphia enmascarado (Sandberg AA 1990).

La incidencia de translocaciones entre otros cromosomas, diferentes a la clásica t(9;22), ocurre entre un 5 y un 10% .

3.2.1 Cromosoma Ph en la leucemia linfoblástica aguda

El cromosoma Philadelphia se presenta en el 2-3 % de las leucemias linfoblásticas infantiles, llegando a encontrar en un 30% de las leucemias linfoblásticas agudas del adulto (Third International Workshop 1981; Sandberg y cols. 1990). Las leucemias agudas, Philadelphia positivas, presentan una gran heterogeneidad, apareciendo en algunas de ellas marcadores de células B; otras se comportan como no T no B y -excepcionalmente- son de células T.

Las leucemias linfoblásticas agudas Ph+ no se diferencian morfológicamente de las LLA Ph-, aunque la presencia de este cromosoma parece llevar consigo implicaciones pronósticas importantes. En general el pronóstico de la LLA Ph+ es malo, como se recoge en los trabajos publicados por Chessels y cols(1977) y Bloomfield y cols(1980).

En este tipo de leucemias el cromosoma Philadelphia no difiere morfológicamente del encontrado en la leucemia mieloide crónica. Tampoco existen diferencias en el tipo de variantes, aunque son menos frecuentes (menos del 5 %, Sandberg 1985). En las leucemias agudas, el cromosoma Ph se presenta generalmente en mosaico con línea celular normal, lo que es infrecuente en la LMC.

Al aparecer el cromosoma Ph en la LLA surgió la duda de si respondía a una nueva entidad ó por el contrario, se trataba de una LMC en fase aguda. Este tema fue revisado por Catovsky (1979). Existen argumentos que están a favor de que constituyan una misma entidad, como los de que - en algunos casos- al entrar en remisión se manifiestan como una LMC. Entre

los argumentos en contra, se encuentra el comportamiento del cromosoma Philadelphia, ya que en la leucemia aguda el cromosoma Ph desaparece, lo que no ocurre en la crónica.

Hoy en día, con los conocimientos adquiridos en el campo de la genética molecular, se ha comprobado que unos casos de LLA pueden tener el reajuste entre c-abl/bcr de la LMC y que en otros, varía este reordenamiento genético, siendo verdaderas leucemias agudas.

3.3 Translocación 11;14 (q23;q32)

Esta alteración aparece mas frecuentemente en el linfoma linfocítico de célula pequeña; en la leucemia linfoide crónica-B después, y más raramente, en la LLA tipo L1. Ha sido estudiada a nivel molecular por el grupo de Tsujimoto y cols. en 1985, encontrando que el punto de rotura en 14q32 ocurre dentro del locus de la cadena pesada de las inmunoglobulinas, entre las regiones J y V. La región V, en esta translocación, pasa al cromosoma 11q-, permaneciendo las otras regiones en el 14.

Otra translocación afectando a los mismos cromosomas 11 y 14, pero con distintos puntos de rotura (11p13 y 14q11), aparece en ocasiones en las neoplasias de células T con morfología de L1 ó L2. En esta translocación, se interfiere la secuencia del locus de la cadena α y δ del receptor de células T (Lewis y cols. 1985; Erikson y cols. 1985, Harvey y cols. 1989).

3.4 Translocación 4;11(q21;q23)

Descrita por Van den Berghe en 1979 , aparece en la leucemia congénita aguda ó en los primeros meses de edad de los niños. En los adultos, se presenta con mas frecuencia en el sexo femenino. El cuadro clínico se caracteriza por leucocitosis, gran esplenomegalia y mal pronóstico. Su frecuencia varía en las distintas series entre un 2% y un 20% (Mirro y cols. 1986; Bjerrum y cols. 1985), no conociéndose si tiene alguna significación su variación geográfica.

Morfológicamente, se han incluido la mayoría de los casos en el grupo de los procesos linfoides, aunque existen publicaciones indicando que pueda tratarse de una proliferación de células mieloides inmaduras (Parkin y cols. 1982).

El estudio de los reajustes que se producen a nivel molecular parece apoyar la primera asociación descrita con la patología linfoide, particularmente con la de células B (Stong y cols. 1985). La mayoría de los casos se han catalogado como L1 ó L2 y excepcionalmente, se ha visto en un caso con morfología L3 (Ferro y San Román 1986). Otro tipo de leucemia aguda con el que se ha asociado es con la leucemia aguda con características mielomonocíticas, sugiriendo algunos autores (Nagasaka 1983; Parkin 1982) que esta leucemia probablemente se origina en un precursor temprano de estas células.

Al igual que ocurre en otras translocaciones, se ha localizado un oncogén en el punto de rotura del cromosoma 11q, el c-est 1 (Sacchi y cols 1986). Ofrece el interés de que el punto de rotura en 11q23-24, se encuentra afectado tanto en la linea linfoide como en la mieloide (Berger y cols. 1982; Ferro y San Román, 1986).

3.5 Translocación 1;19 (q23;p13.3)

Identificada en niños con LLA pre-B (Shikano T. y cols.1986)

4. Deleciones en la LLA

Los cromosomas 6 y 9 son los que mas frecuentemente aparecen delecionados y con los que se han establecido ciertas correlaciones.

La deleción de los brazos largos del cromosoma 6 (con puntos de rotura variables) se ha encontrado preferentemente en la LLA no T no B, aunque hay algunos casos descritos con marcadores de célula T o B (Berger y cols. 1985; Heerema y cols. 1985). La morfología, en la mayoría de los trabajos, es de L1 y L2. La deleción es relativamente frecuente, encontrándose aproximadamente en un 10% de los casos, aunque esta cifra es muy variable en los distintos estudios. También es variable el punto por donde se rompe este cromosoma.

En la zona delecionada con más frecuencia (q22), se ha localizado el oncogén c-myb (Barletta y cols. 1987). En los casos investigados, el oncogén no se perdió aunque si estaba aumentada su actividad, indicando esto un efecto posicional de la deleción y no una homocigosidad como ocurre en otros casos.

La deleción del cromosoma 9 ocurre en la mayoría de los casos en los brazos cortos (p21), al contrario de lo que hemos visto en el cromosoma 6 que ocurre en los brazos largos.

La delección del cromosoma 9 necesita una mayor definición, ya que se ha observado su presencia en LLA con diferentes características morfológicas e inmunológicas. Sin embargo, parece que las características clínicas de los enfermos tienen rasgos coincidentes, con abundante masa tumoral y mal pronóstico (Kowalczyk y cols. 1983; Maseki y cols. 1986).

5. Anomalías numéricas en LLA

En la leucemia linfoblástica aguda los cromosomas que con más frecuencia se pierden son el cromosoma 7 y el cromosoma 20. Cuando aumenta el número cromosómico, las trisomías más comunes son la 6, 8, 18 y 21.

Existen dos cuadros cromosómicos especiales en la LLA: en unos casos, el cariotipo se encuentra cerca del número haploide, con un número modal entre 26 y 28 cromosomas, apareciendo además una población en la que se duplica este número hipodiploide con sus correspondientes marcadores cromosómicos; en otros casos, aparece una hiperdiploidía importante con más de 50 cromosomas. El grupo con hiperdiploidía se ha asociado a buen pronóstico, ocurriendo lo contrario en las leucemias que presentan una hipodiploidía severa.

En la tabla siguiente se resumen los cambios cromosómicos específicos y no al azar, presentes en las leucemias linfoblásticas agudas:

Tipo	Cambios cromosómicos
L1	6q-, t(1;19)(q23;q13) t(11;14) (q13;q32), Ph+
L2	t(4;11), 12p-, Ph+
L3	t(8;14) t(2;8) t(8;22)

G.- LOS RESULTADOS CITOGENÉTICOS COMO FACTOR PRONÓSTICO EN LA LLA.

Uno de los problemas más importantes que se plantea el hematólogo cuando se hace un diagnóstico de LLA, es tratar de conocer la evolución que va a sufrir la enfermedad.

Son diversos los factores pronósticos a tener en cuenta en una leucemia aguda. Por una parte, la LLA es una enfermedad curable y por otra, los tratamientos de elección varían según la valoración de cada caso.

Citogenéticamente, a través del cariotipo, podemos encontrar diferentes resultados que nos conducirán hacia un valor pronóstico sobre la evolución de la célula neoplásica.

El primer aspecto que se tiene en cuenta en la valoración de un caso es si es normal o patológico, es decir, si es AA (todas las células anormales), AN (células anormales con normales) o NN (todas normales). Este criterio ha sido aplicado en el Tercer Workshop, encontrando que aquellos enfermos con cariotipo AA tienen una evolución peor y pueden ser candidatos a trasplante de médula ósea precoz.

Un segundo aspecto importante, es la correlación que puede existir entre el pronóstico de un determinado caso y el tipo de alteraciones simples o complejas de su cariotipo, es decir, si este es de tipo MAKa (major karyotypic abnormalities) o de tipo MIKA (minor karyotypic abnormalities). Los casos MAKa por lo general tienen una supervivencia menor que los casos MIKA.

El tercer aspecto a valorar, se refiere al número cromosómico encontrado en las células leucémicas. En los trabajos de Secker-Walker y cols. 1982 y de Williams y cols. 1982, se llega a la conclusión de que la hiperdiploidía elevada o las células diploides normales, son signo de buen pronóstico.

Por último, la presencia de determinadas alteraciones ha sido asociada con un determinado pronóstico. Así, la translocación 9;22, se considera de mal pronóstico (The Third International Workshop on Chromosomes in Leukemia 1981,1983; Bloomfield y cols. 1977,1980; Sandberg y cols.1980,1990). Las translocaciones (4;11) y (8;14) se han considerado igualmente de mal pronóstico, con una mala respuesta al tratamiento por parte de aquellos enfermos que las presentan, junto a una escasa supervivencia. (The

Third International Workshop on Chromosomes in Leukemia 1981,1983; Arthur y cols 1982; Berger y cols. 1979).

H.- ANALISIS COMPARATIVO DE LAS ANOMALIAS CITOGENETICAS EN LOS PROCESOS LINFOPROLIFERATIVOS

El estudio cromosómico de los linfomas presenta grandes dificultades debido, por una parte, al escaso número de metafases que se encuentran en los cultivos y por otra, a la dificultad que existe para su definición, lo que conduce a la diversidad de sus clasificaciones (Rapaport 1966, Lukes y Collins 1974, Lennert 1974, etc), entorpeciendo el establecimiento de la correlación entre los hallazgos citogenéticos y el tipo de tumor.

Como la célula enferma es aparentemente la misma -el linfocito- pero el cuadro clínico es diferente, y las alteraciones citogenéticas coinciden algunas veces, vamos a resumir rápidamente estas coincidencias o sus diferencias .

Los hechos que más destacan en cuanto a las similitudes dentro de las anomalías estructurales son :

- La translocación entre el cromosoma 14 y los cromosomas 2, 8 y 22 tanto en el Linfoma de Burkitt como en la L3.

- La translocación (11;14) (q13;32) en el linfoma difuso de células pequeñas y en la leucemia aguda linfoblástica tipo L1.

- La delección de 6q en todos los tipos de leucemia linfoblástica aguda y en el linfoma difuso de células grandes.

El 14q+ en los procesos linfoproliferativos T, independiente del tipo de manifestación de la enfermedad.

En cuanto a las diferencias es de destacar la aparición frecuente del cromosoma Philadelphia en la leucemia linfoblástica aguda tipo L1 y L2 y no en los linfomas, así como la presencia, aunque más rara, de la translocación 1;19 en la LLA pre-B y no en los linfomas. Por el contrario la translocación 14;18 característica de los linfomas foliculares no se ha encontrado en las leucemias agudas.

Las anomalías numéricas ofrecen también grandes similitudes como las trisomías 1 y 3 en los procesos linfoproliferativos tipo Burkitt con manifestación de tipo leucémico o linfomatoso. Entre las diferencias, se encuentra la alta frecuencia de la trisomía 21 en las leucemias agudas, no así en los linfomas.

I.- LOCALIZACION CROMOSOMICA DE ONCOGENES EN LAS ENFERMEDADES LINFOIDES.

Las técnicas citogenéticas, unidas a los descubrimientos en genética molecular, han producido un gran avance en el conocimiento de la patogenia del cáncer. Varios son los oncogenes cuya localización coincide con los puntos de rotura de las anomalías específicas de las neoplasias. En la tabla siguiente mostramos los que están relacionados con algunas de las anomalías de la leucemia linfoblástica aguda.

Localización cromosómica de los oncogenes:

oncogén	localización	enfermedad	alt.cromosoma
c-myb	6q22-24	LLA	6q-
c-myc	8q24	LLA(L3)	t(8;14) t(8;22) t(2;8)
c-abl	9q34	LLA	
c-est	11q23-24	LLA	
c-K-ras 2	12p11.1-12.1	LLA-T	
c-sis	22q13	LLA(L3)	t(8;22)

II- PROPOSITO DEL TRABAJO

Según lo que acabo de indicar en la Introducción, en un principio los estudios citogenéticos en el hombre, utilizando la técnica que Moorhead y cols.(1960) pusieron a punto para el estudio de los cromosomas, tuvieron una aplicación limitada al campo de las malformaciones o de los problemas de la reproducción. El descubrimiento del cromosoma Philadelphia con esta técnica representó la primera de las alteraciones cromosómicas estructurales intimamente relacionada con una enfermedad hematológica maligna, ilusionando a los citogenetistas y haciendo que intentaran extrapolar este hallazgo a otros tipos de hemoblastosis.

La gran variación de las alteraciones que aparecieron junto a su irregular presentación en las leucemias agudas, hizo perder -momentáneamente- las esperanzas puestas en el estudio del cariotipo de las hemopatías agudas. La aparición de las técnicas de bandas que identificaban aisladamente los cromosomas (Caspersson 1970), permitió ver que las células leucémicas presentaban, verdaderamente, alteraciones cromosómicas específicas. Ello ha dado paso, con posterioridad, a pensar que las alteraciones cromosómicas que aparecen en las leucemias, están estrechamente relacionadas - a través de los puntos de rotura cromosómicos- con el

proceso tumoral, lo que está permitiendo mediante la genética molecular, conocer la localización de los oncogenes, generalmente en o alrededor de dichos puntos.

Mi interés por el estudio de las anomalías cromosómicas en las neoplasias me ha permitido obtener una amplia experiencia en este campo, concretamente en el de las hemoblastosis. En este trabajo de tesis para obtener el título de Doctor en Medicina, me he centrado en el estudio de las leucemias linfoblásticas agudas empleando las técnicas de cultivos celulares de sangre periférica y médula ósea, en 107 enfermos de LLA.

Los objetivos de este trabajo son :

- 1) Estudiar los cromosomas de un grupo de enfermos diagnosticados de leucemia linfoide aguda.
- 2) Analizar las alteraciones cromosómicas que puedan presentarse, recogiendo:
 - a) la frecuencia de anomalías cromosómicas.
 - b) tipo de alteraciones : numéricas y/o estructurales.
 - c) la localización de estas alteraciones en cromosomas concretos.

- 3) Analizar los puntos de rotura de los cromosomas y observar su correspondencia con los loci de los oncogenes conocidos.

- 4) Buscar la relación entre las distintas alteraciones encontradas y los grupos morfológicos e inmunológicos de las leucemias linfoblásticas agudas, contribuyendo a un mejor diagnóstico de la enfermedad.

- 5) Tratar de encontrar las variaciones de las alteraciones cromosómicas durante la evolución de la enfermedad y estudiar las posibles consecuencias del tratamiento.

III. MATERIAL Y METODOS

A- NUMERO DE PACIENTES Y PROCEDENCIA

El estudio se realizó en enfermos diagnosticados de leucemia linfoblástica aguda, enviados a nuestro servicio desde varios Hospitales comprendidos en el area de Madrid. La mayoría procedían del Hospital Ramón y Cajal, Hospital de la Princesa, Hospital Clínico de San Carlos y Ciudad Sanitaria de la Paz.

El número total de enfermos con LLA fué de 107. De ellos, el número de adultos con LLA fué de 61.

El número de niños (Edad \leq 15 años) con LLA fué de 46.

La clasificación del tipo de leucemia se efectuó por los estudios morfológicos, citquímicos e inmunológicos.

B- CLASIFICACION HEMATOLOGICA

Se procedió a la clasificación de los enfermos con leucemia aguda linfoblástica según los criterios dados por la FAB . Los tipos morfológicos según esta clasificación fueron L1, L2 y L3.

C-ESTUDIOS CITOGENETICOS

1-Tejido utilizado.

En todos los casos el estudio citogenético se realizó en células de médula ósea obtenidas por punción-aspiración de la misma.

Eventualmente se realizaron estudios en células procedentes de sangre periférica, sobre todo en aquellos casos en los que el fenotipo del paciente o los hallazgos citogenéticos de la médula ósea hicieron sospechar la existencia de una anomalía cromosómica constitucional (alteración numérica, inversión pericéntrica etc.) no conocida.

2- Recogida de la muestra.

Las células obtenidas de la médula ósea fueron procesadas dentro de las dos horas siguientes a su extracción; la demora en este paso lleva consigo un detrimento de la calidad de las metafases obtenidas.

3- Métodos utilizados para el cultivo de médula ósea con la finalidad de obtener cromosomas en metafase.

Las muestras fueron estudiadas por método directo o después de un cultivo a corto plazo y/o con sincronización cromosómica. El empleo simultáneo de estos tres métodos permite obtener material adecuado en cantidad y calidad por una parte, y por otra, tener la certeza de que los resultados no han sido

condicionados por las condiciones del cultivo utilizado.

Los estudios directos expresan mejor la situación real de la médula ósea, al no seleccionar clones; nos informan de la patología neoplásica y nos permiten conocer si la médula conserva celularidad normal. Tienen además la ventaja de no falsear los resultados y de no requerir unas condiciones estrictas de esterilidad.

Los cultivos a corto plazo utilizados por nosotros han sido de 24 y 48 horas. Tienen la ventaja de recolectar un mayor número de células y además, ponen de manifiesto clones que en el estudio directo pueden pasar desapercibidos, bien porque el número de células patológicas sea mayor, o bien porque permitan estudiar células neoplásicas que requieran mayor tiempo para alcanzar la metafase.

Las técnicas de sincronización cromosómica nos permiten obtener los cromosomas en un momento dado de la división (prometafásicos), en los que es más fácil averiguar una pequeña anomalía estructural. De entre las diferentes técnicas de sincronización que pueden utilizarse nosotros hemos elegido las técnicas de sincronización con Methotrexate.

Por último, y a título experimental, montamos en nuestro laboratorio técnicas en las que empleamos los sobrenadantes de los cultivos de amniocitos de líquido amniótico como factores enriquecedores del medio. Ofrecen la ventaja de que aumenta el número de mitosis obtenidas.

Se hicieron también cultivos con estimulantes, siendo los elegidos por nosotros el pokweed y TPA, para estimular los linfocitos B y la Phitohemaglutinina para estimular los T.

4-Técnicas empleadas para la obtención de cromosomas

4.1- Reactivos.

Soluciones empleadas para el cultivo celular y procesado de los cromosomas en las distintas muestras y técnicas:

1- medios de cultivo:

RPMI 1640

McCoy

2- suero bovino fetal.

3- antibióticos (solución de penicilina - estreptomycin).

4- Glutamina.

5- Hepes.

6- Mitógenos.

7- Colchicina.

8- Methotrexate.

9 -Cloruro potásico.

10- Carnoy (metanol 3: acético 1).

11- Tinciones: Giemsa y Leisman.

4.2- Preparación del medio de cultivo.

RPMI 1640, 100 ml.

McCoy, 100 ml.

Suero bovino fetal, al 20% en caso de utilizar RPMI y al 7% en caso de hacer el cultivo con McCoy.

Antibióticos (solución de penicilina y estreptomycin), 1,5 ml.

Hepes, 1,5 ml.

Glutamina 1,5 ml.

4.3- Técnica del método directo

1- Aspirado de 0,5 ml. de médula ósea, heparinizada y estéril.

2- Se siembra la muestra, variando la cantidad según la celularidad, en un frasco estéril que contiene 5 ml. de medio RPMI 1640 preparado de la forma que hemos expuesto anteriormente.

3- Se añade colchicina a una concentración de 0,015 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

Se emplean tiempos cortos de exposición, dada la especial sensibilidad que presentan las células leucémicas a la colchicina, con el fin de evitar la condensación cromosómica, lo que nos dificultaría su posterior análisis. Según nuestra experiencia el tiempo óptimo es de 30 minutos.

4- Se incuba durante este tiempo en estufa a una temperatura de 37° . Ligeros cambios en la temperatura empobrecen el cultivo.

5- Transcurrido este tiempo de exposición a la colchicina, se pasa el cultivo a un tubo de centrifuga de 15 ml.

6- Se centrifuga a una velocidad de 800 r.p.m. durante 10 minutos.

7- Se elimina el sobrenadante, excepto 0,5 ml. y se resuspende suavemente con pipeta Pasteur.

8- Añadimos 0,5 ml. de cloruro potásico 0,075 M. y se resuspende nuevamente, con la suavidad que requiere todo el proceso.

9- A continuación se añaden otros 4,5 ml. más de cloruro potásico, resuspendiendo de nuevo.

El tratamiento con cloruro potásico (choque hipotónico), se realiza introduciendo el tubo en un baño a 37° durante 30 minutos. Del tiempo y la

cantidad del choque hipotónico, depende el que los cromosomas queden libres de la matriz citoplásmica.

10- Pasado los 30 minutos, se procede a centrifugar a 800 revoluciones por minuto, durante 10 minutos.

11- Eliminamos el sobrenadante, dejando 0,5 ml. del mismo y resuspendemos nuevamente.

12- Añadimos 0,5 ml. de Carnoy suavemente. Se va echando gota a gota y resuspendiendo al mismo tiempo.

13- Se añade el resto del fijador, hasta 5 ml. y se vuelve a resuspender.

14- Se repite el procedimiento las veces que sean necesarias, hasta que el cultivo quede trasparente. Generalmente es suficiente con dos o tres pases.

15- Después del último lavado, se pueden dejar los tubos en el frigorífico o a temperatura ambiente. Nosotros hemos obtenido mejores resultados, dejandolos a temperatura ambiente durante 24 horas.

16- Después de un último centrifugado, para proceder a la extensión, se decanta y se añade 1ml. de fijador fresco.

17- Los portas se preparan lavándolos en alcohol y secándolos con un paño limpio. De los múltiples procedimientos existentes para mejorar la extensión, los portas no deben calentarse ya que dificultan las diferentes técnicas de bandas cromosómicas.

18- La tinción utilizada es la de Leishman, durante 5 minutos.

4.4- Técnica de cultivos de corto tiempo (24 y 48 horas).

Para la obtención de metafases, se procede de forma idéntica a la descrita en el método directo, con la única diferencia de que antes de añadir la colchicina mantenemos el frasco con el cultivo medular en la estufa, durante un tiempo de 24-48 horas.

4.5- Técnica de cultivo utilizando sobrenadante derivado de cultivo de fibroblastos.

Hemos empleado, como sustancia enriquecedora, el sobrenadante del cultivo de fibroblastos de los cultivos de líquido amniótico.

La médula se deposita en los frascos habituales, en los que hemos puesto 2,5 ml. de medio RPMI 1640 preparado según es norma y otros 2,5 ml. del sobrenadante de los cultivos celulares amnióticos.

4.6- Técnicas de sincronización cromosómica.

Después de un periodo inicial de cultivo asincrónico que varía, según sea sangre o médula ósea el material que se analiza (entre 48-72 horas para la primera y 3- 5 horas para la segunda), se añade un agente bloqueante (Ametopterina) para inducir la sincronización (la Ametopterina es un antagonista del ácido fólico; el ácido fólico se requiere para la incorporación de la timidina y por la acción de la Ametopterina, las células se bloquean en la frontera entre G1/S). Después de 17 horas (20 como máximo), se interrumpe el bloqueo lavando las células con medio y se vuelve a resuspenderlas en otro medio rico en timidina.

a) Método utilizado

Se cultiva la sangre o médula ósea, durante 48 horas en un medio sin timidina (McCoy's 5A).

1- Entre las 14-16 horas se inicia el cultivo según se ha indicado anteriormente, en estufa a 37° centígrados.

2- Después de transcurridas las horas indicadas, se añade Methotrexate a una concentración de 10^{-7} M.

3- Se incuban los cultivos durante toda la noche (16-17 horas).

4- Se centrifugan los líquidos y se elimina el sobrenadante.

5- Se lavan las células con Ham's F-10 sin suplementar.

6- Se añaden 4 ml. de Ham's F-10 completo y suplementado además con timidina (10.5M).

7- Se reincuba durante otras 5 horas.

8- Se añaden de 30 a 40 ml. de Colcemid y se mantienen en él, entre 15 y 30 minutos.

9- Se sacrifica el cultivo según el método habitual.

b) Soluciones

Ametopterina.- Se mezcla un vial de 2 cc. (5 mg. de ametopterina con 98 ml. de BSS). Se diluye 1 a 10 en BSS para obtener una solución de trabajo a una dilución de 10.5M . Se usan $50 \mu\text{g}/5\text{ml}$. de medio para obtener una concentración final de 10.7M .

Timidina.- Se añaden 10 mg. de timidina a 40 cc. de BSS. Esto representa una solución 10.3M . Para preparar la solución de trabajo, 10.5M ., se añaden 0,1 cc. a 10 ml. del medio completo.

4.7- Técnica del cultivo de linfocitos de sangre periférica y de médula ósea, estimulando con Phitoheماغlutinina.

(Basado en el método de Moorhead y cols. 1960)

1- A 5 ml. de medio RPMI 1640, preparado según hemos referido pero con menor concentración de suero (10 ml. por 100 ml. de medio), se le añaden 0,5 ml. de sangre.

2- Se agregan 0.25 ml. de Phitoheماغlutinina a cada frasco de cultivo con el fin de estimular la división de los linfocitos T.

3- Se incuba en una estufa a 37° centigrados de temperatura, durante un periodo de tiempo de 72 horas.

4- Pasado este tiempo de incubación, se añade Colchicina a una concentración final de 0,005 µg/ml. y se reincuban los cultivos durante una hora más.

5- Se pasa el líquido a un tubo cónico de y se centrifuga a 1000 revoluciones por minuto, durante 5 minutos.

6- Se decanta el sobrenadante y se procede a dar el choque hipotónico de igual forma que en médula ósea, aunque con menor duración (unos 10 minutos son suficientes).

7- Finalizado el tiempo del choque, se centrifuga, se decanta y se procede a dar los pasos de fijación con Carnoy.

8- Una vez que el cultivo se observa transparente, se deja con fijador en el frigorífico por un tiempo mínimo de 30 minutos.

9- Transcurrido este tiempo se puede proceder a la extensión.

4.8- Técnica de cultivo de linfocitos de sangre periférica y médula ósea con estimulantes de células B.

Son similares a las descritas en el apartado anterior cambiando la Phitohemaglutinina por Pokweed y TPA. Se necesita una duración del cultivo mas larga, de 5 o 6 días.

Las cantidades de Pokweed utilizadas por nosotros fueron de 0,1 ml. por 10 cc. de medio y las de TPA de 50µg/ml.

5- Técnicas de identificación cromosómica por bandas.

Por medio de diversos tratamientos y tinciones se pueden ver los cromosomas como una serie continua de bandas oscuras y claras.

Estas tinciones se describen por primera vez para los cromosomas humanos por Cassperson y cols. en el año 1968 y desde entonces van a permitir definir cada cromosoma, igualándolo a su pareja y diferenciándolo de los demás. Son técnicas, que además sirven para precisar regiones cromosómicas polimórficas (variables dentro de las parejas cromosómicas y entre individuos) y gracias a ellas, es posible determinar reajustes estructurales que anteriormente eran difíciles de reconocer, sobre todo en las células neoplásicas.

Existen dos grandes grupos de estas técnicas de bandas. Uno comprende las bandas que se distribuyen a lo largo de todo el cromosoma : G o Giemsa, Q o Quinacrina y R o Reverse); otro abarca aquellas que tienen solo un número restringido de bandas : C o Centroméricas, T o Terminales y NOR o satelitares).

Nosotros hemos utilizado de modo rutinario las bandas G mediante tripsina y en aquellos casos que lo consideramos necesario, empleamos las técnicas de bandas Q y C.

5.1 Técnica de bandas G.

El término deriva del nombre de su tinción (Giemsa), aunque también se emplea GT (bandas G por tripsina).

La técnica consiste en una modificación de la descrita por Marinba Seabright en 1972.

1- Se hace una dilución de 0,1 gr. de Tripsina (Gibco 1:250) en 4 ml. de agua destilada. De esta solución se toman 0,25 ml. y se diluyen en 50 ml. de solución salina isotónica.

2- Las preparaciones se ponen en contacto con la solución de tripsina por un tiempo comprendido entre 30 segundos y 5 minutos, variando el tiempo de exposición según la antigüedad de la preparación y la calidad de los cromosomas. Nosotros dejamos envejecer los portas durante 7 días a temperatura ambiente.

3- Se lavan bien con agua destilada.

4- Se tiñen con Leishman. (0,2 gr. diluidos en 10 ml. de alcohol como solución madre; la solución de trabajo se hace en proporción 1:4 con Buffer pH 6,8). La tinción se aplica durante 3-4 minutos y se lava con Buffer a pH 6,8. (Utilizamos Leishman en lugar de Giemsa por la rapidez de la tinción).

5.2 Técnica de bandas Q.

Descrita por CASSPERSON y cols. en 1968, se basa en la tinción con compuestos acridínicos. Es de una gran sencillez y de resultados muy seguros, ya que los cromosomas no se deshacen como ocurre con el uso de la tripsina. Otras ventajas que presenta es que nos permiten analizar las regiones polimórficas de los cromosomas y que los portas pueden reutilizarse para cualquier otra técnica. Tiene sin embargo el inconveniente de que las bandas que se producen no tienen la calidad de las enzimáticas y se desvanecen rápidamente.

1- Una vez preparados los portas, se sumergen en una solución alcohólica (Metanol) de Atebrina (Quinacrina dihidroclorada) al 0,5%, un tiempo mínimo de 10 minutos.

2- A continuación se lavan y se secan al aire.

3- Para su visualización se utiliza un microscopio de fluorescencia.

5.3 Técnica de bandas C.

Las técnicas de bandas C muestran las distintas regiones centroméricas y las constricciones secundarias. Las regiones centroméricas contienen heterocromatina constitutiva y forman parte de los llamados polimorfismos cromosómicos. En el cariotipo humano, las regiones que se señalan más claramente con las bandas C son las constricciones secundarias situadas por debajo de los de los centrómeros 1,9 y 16, las regiones satelitares de los cromosomas acrocéntricos y la parte distal de los brazos largos del cromosoma Y.

Se emplea la técnica de Arrighi y Hsu 1971 modificada por Sumer en 1972.

La técnica aplicada se desarrolla del siguiente modo:

1- Se colocan los portas en contacto con ácido clorhídrico 0,2 M. durante 15 minutos a temperatura ambiente.

2- Se lavan con agua destilada.

3- Se introducen en una solución de hidróxido bórico a 60° de temperatura, durante 4 minutos.

4- Se lavan con agua destilada.

5- A continuación se pasan las preparaciones a un recipiente con 2xSSC a 60°, durante 60 minutos.

6- Se lavan con agua destilada.

7- Se tiñen con Giemsa, durante 60 minutos

Las soluciones que se emplean son las siguientes:

Cl H - 1,44 gr. en 200 ml de agua destilada.

Ba (OH) 2 - 5 gr. en 100 ml. de agua destilada.

2x SSC - ClNa 4,38 gr.

Citrato trisódico 2,206 gr.

Diluido todo en 250 ml. de agua destilada.

Giemsa - 1 ml. de Giemsa en 50 ml. de Buffer pH 6,8.

A pesar de todos los avances, obtener buenas preparaciones cromosómicas de los cultivos de sangre o de médula ósea de los enfermos leucémicos, es una de los logros más difíciles en un laboratorio de genética. Esta dificultad viene dada por el diferente comportamiento de cada muestra y por la la calidad de los cromosomas, que muchas veces dificultan el realizar las técnicas de bandas.

6- Análisis microscópico

La búsqueda de metafases se realizó mediante un patrón fijo de barrido del portaobjetos con un objetivo de 10x, sin utilizar ningún método de selección previo.

El análisis de cada una de las metafases se realizó con un objetivo plano de inmersión 100x.

Al analizar las metafases hay que tener en consideración un aspecto muy importante : la mayoría de las células anormales son las que tienen una mala morfología y las de mejor calidad son las células normales. Por ello es fundamental no hacer una selección de las metafases que se estudian atendiendo a su calidad.

D- CRITERIOS PARA LA VALORACION DEL ANALISIS
CITOGENETICO

Si es posible, se ha de analizar un mínimo de 30 metafases por caso. Con bandas se estudian un mínimo de 10.

Se considera un estudio como patológico cuando:

a) 2 o más metafases, repiten el mismo cromosoma extra.

b) 2 o más metafases, presentan la misma anomalía estructural.

c) 3 o más metafases, sufren la pérdida del mismo cromosoma.

Estos criterios son los adoptados en la primera Reunión Internacional sobre Cromosomas y Leucemias (1977).

En nuestro estudio se determinó el número de clones en cada caso y el número de metafases en cada clón.

Los casos fueron clasificados siguiendo los criterios de Sandberg (1980):

AA (Todas las metafases anormales).

AN (Mézcla de metafases normales y anormales).

NN (Todas las metafases normales).

Los cambios aislados, considerados inespecíficos, fueron recogidos pero no se valoraron como línea patológica ya que pueden ser errores en una sola mitosis.

En la recogida de datos se ha tenido en cuenta en cada caso el origen de la muestra :médula ósea, sangre periférica, ganglio, etc.etc. El método y tiempo de cultivo (directo, 24 horas, 48 horas, 72 horas...). La existencia o no de estimulación (PW, PHA, sobrenadante) o de sincronización y las bandas utilizadas para la identificación de cromosomas (G,Q,C).

Se contabilizaron las metafases estudiadas con y sin bandas y las fotografiadas en cada caso. Se tipificó el tipo de anomalía (numérica, estructural, numérica y estructural, roturas, aneuploidías, etc.) y se tuvo en cuenta el número de metafases que la presentaban. Se observó si existía más de un clón patológico.

Finalmente, se tuvo en cuenta la existencia o no de tratamiento previo y la situación hematológica de la enfermedad (inicial, en remisión o en recaída).

E- APENDICE, NOMENCLATURA

Varios son los intentos que se han realizado para encontrar un sistema de nomenclatura de los cromosomas humanos en metafase.

Comienzan estos en la reunión de Denver del año 1960, donse se ordenan los cromosomas según su tamaño y posición del centrómero. Le siguen las reuniones de Londres y Chicago, en las que se continúa fijando la atención en la morfología y no es hasdta la reunión de Paris en 1971, cuando se aporta una nueva organización de los cromosomas gracias a la aplicación de las técnicas de bandas que permite, como queda dicho, el reconocimiento individual de los cromosomas. Se perfecciona este último sistema en la Reunión Internacional que a tal efecto tiene lugar en el año 1978. (ISNC 1978).

En nuestro trabajo, las alteraciones cromosómicas han sido expresadas siguiendo la nomenclatura de esta reunión internacional y de la que se hace un resumen en el anexo 1.

Lo primero que se menciona al describir el cariotipo es el número cromosómico (46), seguido por el sexo cromosómico (XX/XY) y la ganancia o pérdida de cromosomas(+3 ó -7,etc). Por último se anotan las anomalías estructurales (roturas, reajustes, inversiones, etc).

Los brazos cortos se nombran con la letra p y los largos con la q.

La ganancia de cromosomas se indica por el signo + y la pérdida por el signo -.

En cuanto a las anomalías estructurales:

1. Translocación.- Se señala con una t y a continuación los cromosomas que participan, encerrados entre paréntesis. En un paréntesis posterior se ponen los brazos y bandas que se han afectado por la rotura. Ejemplo: t(9;22) (q34;q11).

2. Delección.- Se indica por del y se pone a continuación el cromosoma afectado, el brazo de este y el punto de rotura. Ejemplo : del (9)(q22).

3. Isocromosoma.- La letra i se usa para indicar un isocromosoma. A continuación se pone entre paréntesis el cromosoma que lo forma y una p o q según sea de brazos cortos o largos. Ejemplo : i (8q).

4. Cromosoma en anillo.- La r es la letra utilizada para indicar los anillos, poniéndose a continuación entre paréntesis el cromosoma que lo forma. Ejemplo : r(1).

5. Inversión.- Para indicar una inversión se utiliza la abreviatura inv. Después de ella también se pone cromosoma, brazo y punto de rotura. Ejemplo : inv 3(q21,q26).

6. ac, indica un fragmento acéntrico.

7. M, cromosoma marcador.

Otras abreviaturas son las siguientes:

der- cromosoma derivado.

dic- cromosoma dicéntrico.
 DMS- doble cromosoma minuto.
 dup- duplicación.
 end- endoreduplicación.
 f- fragmento.
 g- gap o discontinuidad sin rotura.
 h- heterocromatina o constricción secundaria.
 pcc- condesación cromosómica prematura.
 ?- identificación dudosa de un cromosoma.

s- satélites o masa de cromatina en el extremo de los brazos cortos de los cromosomas. Son variables entre los individuos y se pueden analizar como marcadores.

Mosaicos- se dice de aquellos casos en los que existen diferentes líneas cromosómicas.

Número cromosómico modal- el número cromosómico predominante.

Polimorfismo- Variante cromosómica sin repercusión clínica.

Pseudodiploide- Cariotipo con anomalía estructural y número cromosómico normal.

En los cromosomas sin tinción de bandas, se hacen 7 grupos basados en el tamaño y posición del centrómero.

Grupo A (cromosomas 1-2-3): Cromosomas metacéntricos grandes.

Grupo B (cromosomas 4 y 5): Cromosomas submetacéntricos largos.

Grupo C (del 6 al 12 y el X): Cromosomas metacéntricos y submetacéntricos de tamaño mediano. Imposibles de individualizar sin técnica de bandas.

Grupo D (cromosomas del 13 al 15): Cromosomas acrocéntricos satelitados, de tamaño mediano.

Grupo E (cromosomas del 16 al 18): Cromosomas metacéntricos y submetacéntricos, relativamente cortos.

Grupo F (cromosomas 19 y 20): Metacéntricos cortos.

Grupo G (21-22-Y): Cromosomas acrocéntricos cortos, con satélites. El cromosoma Y es parecido al 21 ó 22, sin satélites.

IV. RESULTADOS

A.- ANALISIS GENERAL DE LOS DATOS

Desde el mes de Marzo de 1979 al mes de Enero de 1990, estudiamos en nuestro laboratorio de citogenética 140 enfermos, en los que se hizo el diagnóstico hematológico de leucemia linfoblástica aguda. Se han eliminado del estudio 33 enfermos por no haber obtenido un número suficiente de metafases o por dificultad en revisar las historias clínicas, con lo que nuestro trabajo se centra en 107 pacientes.

Estos 107 casos de leucemia aguda no linfoblástica se distribuyeron de la siguiente forma:

LLA en el adulto..... 61
 LLA en el niño ≤ 15 años..... 46 (Fig.1).

De ellos, 66 fueron varones y 41 hembras.

Siguiendo la clasificación de la FAB, aparecieron 47 casos de L1, 52 correspondieron a L2 y la L3 constituyó el grupo menos numeroso con 8 casos, (Fig.2).

De los 88 casos con estudio inmunológico, 12 casos respondían al fenotipo B, 15 casos al T, 58 al no T no B y 3 al tipo pre-B, (Fig.3).

B.- ESTUDIOS CITOGENETICOS

Los estudios citogenéticos en estos casos se realizaron:

En el momento inicial..... 94 casos
 Solo en remisión..... 2 casos
 postTMO.....11 casos
 Revisiones.....25 casos

Los 2 casos que fueron estudiados solamente en remisión mostraron un cariotipo normal.

El número total de metafases estudiadas en cada tejido se puede ver en la tabla nº 1.

Tabla nº1 . Número de metafases estudiadas en cada tejido.

nº de metafases en médula.....	4.038.
nº de metafases en sangre.....	508.
Total.....	4.546.

C- INCIDENCIA DE ANOMALIAS

El análisis de la patología cromosómica se realizó en los 94 casos (58 varones y 36 hembras) que se estudiaron en el momento inicial. En capítulo aparte se comentarán los resultados de los casos estudiados postTMO. De estos 94 casos se encontró patología cromosómica en 60 (38 varones y 22 hembras), lo que corresponde a un 63,8% (65,5% de los varones y 61,1% de las hembras).

Un 62,4% de los niños mostraron patología y de los adultos un 64,8 %, (Fig.4)

Analizada la incidencia de patología cromosómica dentro de cada grupo de la FAB, en la L1 encontramos un 60% de patología (24 casos de 40), en la L2 un 63% (29 casos de 46), y en la L3 un 87,5% (7 casos de 8), (Fig. 5, 6, 7).

La incidencia de anomalías en cada grupo en relación con la morfología se refleja en las tablas nº 2 y nº 3.

Tabla nº.2 .LAL en niños (total casos 40). Incidencia de anomalías.

<u>Tipo FAB</u>	<u>nº casos</u>	<u>cariotipo anormal</u>	<u>(%)</u>
L1	26	17	65,3
L2	12	7	58,3
L3	2	1	50

Tabla nº3 . LAL en adultos (Total casos 52). Incidencia de anomalías.

<u>Tipo FAB</u>	<u>nº casos</u>	<u>cariotipo anormal</u>	<u>(%)</u>
L1	14	7	50
L2	34	22	64,6
L3	6	6	100

Analizada la incidencia de patología cromosómica dentro de cada grupo inmunológico, en la de células B encontramos un 75% de patología (9 casos de 12), en la células T un 50% (6 casos de 12), en la no T no B un 67,3% (35 casos de 52) y en la preB un 100% (2 casos de 2), (Fig. 8 y 9).

La incidencia de anomalías en relación con el inmunofenotipo se refleja en las tablas nº 4 y 5.

Tabla nº4. LAL en adultos (total casos 45). Incidencia de anomalías.

<u>Tipo inmunológico</u>	<u>nºcasos</u>	<u>cariotipo anormal</u>	<u>%</u>
B	8	7	87,5
T	8	4	50
no T no B	27	17	63
pre B	2	2	100

Tabla nº5. LAL en niños (total casos 33). Incidencia de anomalías.

Tipo inmrológico	nºcasos	cariotipo anormal	%
B	4	2	50
T	4	2	50
no T no B	25	18	72
preB	-	-	

D-DESCRIPCION DEL CARIOTIPO.

Los resultados cromosómicos se recogen en la lista siguiente. En ella se expone el cariotipo de los 107 casos que componen la serie.

CARIOTIPOS EN LLA.

nº 1-46,XY,DMS.

nº 2-46,XX/47,XX,+X,t(1;7)(p36;p15),t(5;9)(q33;p22).

nº 3-46,XY.

nº 4-46,XX/46,XX,micro.

nº 5-46,XX.

nº 6-46,XX.

nº 7-46,XY/46,XY,t(9;22)(q34;q11).

nº 8-46,XY.

nº 9- 42,Y,-3,-3,-5,-5,-7,-18,- X,t(6;12)
(p21.2;p13),t(13;14)(q14;q32), M1, M2.

44,XY,-3,-5,t(6;12)(p21.2;p13),
t(13;14)(q14;q32),t(3;5)(q22;?).

nº 10-46,XY/46,XY,t(9;22)(q34;q11).

nº 11-46,XX,t(4;11)(q21;q23). del(12)(p11).

nº 12- 46,XX/45,XX-21.

- nº 13- 46,XY (en remisión).
- nº 14- 46,XY/46XY,t(9;22)(q34;q11).
- nº 15-46,XX/49,XX,+8,+21,+X,t(4;11)(q21;q23).
- nº 16-46,XY/46,XY,+C,t(9;22)(q34;q11).
- nº 17- 45,XY,-4,-10,der(1),t(6;13)(p25;q14),12 p+,17q-.
- nº 18- 46,XY/46,XY,del (4)(cen).
- nº 19- 45,-8,-10,-22,del(5)(q11),del(6)(q21),der
9,del(11)(q13),der (13), 14q+,der(15), M1,M2.
- nº 20- 46,XX,der(1).
- nº 21- 46,XY,dup (1)(q21;q32),t(8;14)(q24;q32),del(18)(p12).
- nº 22- 46,XY/46,XY,t(4;11)(q21;q23).
- nº 23- 46,XX/46,XX,t(14;22)(q32;q11).
- nº 24- 46,XY.
- nº 25- 46,XY/hiperdiploidía.
- nº 26- 46,XY/53,XY.
- nº 27- 46,XY/465,XY,t(5;20)(q15;q13),t(9;22)(q34;q11).
- nº 28- 46,XY,+10,-14,del(9)(p13),t(11;14)(q23;q32)/47,+10,
-14,+21,del(9)(p13),t(11;14)(q23;q32).
- nº 29- 86,XX.
- nº 30- 46,XY,del(11)(q23).
- nº 31- 52,XY.
- nº 32- 52,XX,anomalías estructurales.
- nº 33- 46,XX,t(9;22)(q34;q11).
- nº 34- 46,XX.
- nº 35- 46,XX/64,XX,mar (9).
- nº 36- TMO
- nº 37- 46,XX,-13,+ t(13;13)(p11;q11).
- nº 38- 46,XX,t(9;22)(q34;q11).

- nº 39- 46,XY.
- nº 40- 46,XY.
- nº 41- 46,XY,t(9;22)(q34;q11).
- nº 42- > 50 hiperdiploide.
- nº 43- 46,XX.
- nº 44- 46,XX.
- nº 45- 46,XY.
- nº 46- TMO.
- nº 47- 46,XX remisión.
- nº 48- 46,XX/46,XX,t(9;22)(q34;q11).
- nº 49- 47,XY,t(8;14)(q ;q32),+der (1).
 47,XY,t(8;14)(q ;q32),+der (1),der (5).
 46,XY,-1,t(8;14)(q ;q32),+der (1),der(5).
 46,XY,-1,t(8;14)(q ;q32),+der (1), der(5), del
 (4)(p14).
 49,XY,-1,t(8;14)(q ;q32),+der1,M1,M2,M3.
- nº 50- 46,XY/46,XY,t(9;22)(q34;q11)
 /47,XY,t(9;22)(q34;q11),+C.
- nº 51- 46,XY.
- nº 52- 47,XY,-15,dup (1)(q21-q32)t(8;14)(q ;q32),M1,M2.
- nº 53- 46,XY.
- nº 54- 46,XY.
- nº 55- 44,XX,-9,-10,t(11;14)(p13;q11),4p+.
- nº 56- 46,XX/56,XX.
- nº 57- 46,XY/54,XY.
- nº 58- 46,XX,t(9;22)(q34;q11).
- nº 59- 46,XY.
- nº 60- 46,XY/52,XY,Ph,Ph,+7,+8,+14?,+X,+Y,t(9;11)(p24;q21).

- nº 61- 46,XX/52,XX.
- nº 62- TMO.
- nº 63- 46,XX,t(9;22)(q34;q11),iso (9q).
- nº 64- 47,XY,t(8;14)(;q32),+7.
- nº 65- TMO.
- nº 66- 46,XY,DMS.
- nº 67- TMO.
- nº 68- TMO.
- nº 69- 46,XX.
- nº 70- TMO.
- nº 71- 46,XX.
- nº 72- 46,XX.
- nº 73- 46,XX.
- nº 74- TMO.
- nº 75- 46,XX.
- nº 76- TMO.
- nº 77- 46,XY,t(9;22)(q34;q11).
- nº 78- 46,XY,t(9;22)(q34;q11).
- nº 79- 46,XX.
- nº 80- 46,XY.
- nº 81- 46,XY.
- nº 82- TMO.
- nº 83- 46,XX.
- nº 84- TMO.
- nº 85-46,XY.
- nº 86- 46,X,-X, 3q+,4q-,t(3;4)(?;?), del (9)(q22),
del (12)(p12),+mar.

- nº 87- 46,XX,t(11;14)(?;?).
- nº 88- 46,XY.
- nº 89- 47,XX,t(4;11)(q21;q23),+micro.
- nº 90- 46,XY.
- nº 91- 44,-3,-7,t(9;22)(q34;q11),inv(1)(p36;q31),del
(9)(p13),R.
- nº 92- 46,XY,t(9;22)(q34;q11),inv (9).
- nº 93- 46,XX.
- nº 94- 46,XY/46,XY,t(9;22)(q34;q11).
- nº 95- 47,XY (constitucional).
- nº 96- 46,XX/46,XX,t(8;14)(q ;q32).
- nº 97- 45,XX,mar.
- nº 98- 46,XY.
- nº 99- 49,XY,+21,+21,+21.
- nº 100- 46,XY.
- nº 101- 46,XY.
- nº 102- 46,XY.
- nº 103- 46,XY/48,XY,+5,+22.
- nº 104- 46,XY/46,XY,t(9;22)(q34;q11).
- nº 105- 46,XY/47,XY,+13.
- nº 106- 46,XY.
- nº 107-46,XY/47,XY,+D.

Por grupos morfológicos los cariotipos fueron los siguientes:

LAL en el adulto

Tipo L1

caso	cariotipo
nº16	46,XY/47,XY,+C,t(9;22)(q34,q11).
nº24	46,XY.
nº25	46,XY/hiperdiploidía.
nº27	46,XY/46,XY,t(5;20)(q15;q13),t(9;22)(q34;q11).
nº30	46,XY,del (11)(q23).
nº36	TMO
nº40	46,XY.
nº46	TMO.
nº65	TMO.
nº69	46,XX.
nº73	46,XX.
nº77	46,XY,t(9;22)(q34;q11).
nº80	46,XY.
nº81	46,XY.
nº90	46,XY.
nº91	44,-3,-7,t(9;22)(q34;q11),inv(1)(p36;q31),del (9)(p13),R.
nº92	46,XY,t(9;22)(q34;q11),inv (9).

Tipo L2

- nº3 46,XY.
- nº6 46,XX.
- nº9 42,Y,-3,-3,-5,-5,-7,-18,- X,t(6;12)
(p21.2;p13),t(13;14)(q14;q32), M1, M2.
44,XY,-3,-5,t(6;12)(p21.2;p13),
t(13;14)(q14;q32),t(3;5)(q22;?).
- nº12 46,XX/45,XX,-21.
- nº13 46,XY (en remisión).
- nº19 45,-8,-10,-22,del(5)(q11),del(6)(q21),der
9,del(11)(q13),der (13), 14q+,der(15), M1,M2.
- nº23 46,XX/46,XX,t(14;22)(q32;q11).
- nº32 52,XX,anomalías estructurales.
- nº33 46,XX,t(9;22)(q34;q11).
- nº35 46,XX/64,XX,mar (9).
- nº37 46,XX,-13,+ t(13;13)(p11;q11).
- nº38 46,XX,t(9;22)(q34;q11).
- nº39 46,XY.
- nº41 46,XY,t(9;22)(q34;q11).
- nº44 46,XX.
- nº45 46,XY.
- nº48 46,XX/46,XX,t(9;22)(q34;q11).
- nº50 46,XY/46,XY,t(9;22)(q34;q11)
/47,XY,t(9;22)(q34;q11),+C.
- nº54 46,XY.
- nº66 46,XY,DMS.
- nº67 TMO.
- nº70 TMO.
- nº71 46,XX.

- nº72 46,XX.
 nº75 46,XX.
 nº76 TMO.
 nº78 46,XY,t(9;22)(q34;q11).
 nº86 46,X,-X,t(3;4)(?;?), del (9)(q22),
 del (12)(p12),+mar.
 nº87 46,XX,t(11;14)(p13;q11).
 nº88 46,XY.
 nº89 47,XY,t(4;11)(q21;q23),+micro.
 nº93 46,XX.
 nº94 46,XY/46,XY,t(9;22)(q34;q11).
 nº95 47,XXY (constitucional).
 nº97 45,XX,mar.
 nº104 46,XY/46,XY,t(9;22)(q34;q11).
 nº105 46,XY/47,XY,+13.
 nº107 46,XY/47,XY,+D.

Tipo L3

- nº15 46,XX/49,XX,+8,+21,+X,t(4;11)(q21;q23).
 nº21 46,XY,dup (1)(q21;q32),t(8;14)(q24;q32),del(18)(p12).
 nº42 > 50 hiperdiploide.
 nº49 47,XY,t(8;14)(q24;q32),+der (1).
 47,XY,t(8;14)(q24;q32),+der (1),der (5).
 46,XY,-1,t(8;14)(q24;q32),+der (1),der(5).
 46,XY,-1,t(8;14)(q24;q32),+der (1), der(5), del
 (4)(p14).

49,XY,-1,t(8;14)(q24;q32),+der1,M1,M2,M3.

nº52 47,XY,-15,dup (1)(q21-q32)t(8;14)(q24;q32),M1,M2.

nº96 46,XX/46,XX,t(8;14)(q24;q32).

LLA en el niño

Tipo L1

nº2 46,XX/47,XX,+X,t(1;7)(p36;p15),t(5;9)(q33;p22)

nº4 46,XX/47,XX,+micro.

nº8 46,XY.

nº10 46,XY/46,XY,t(9;22)(q34;q11).

nº11 46,XX,t(4;11)(q21;q23),del(12)(p11).

nº17 45,XY,-4,-10,der(1),t(6;13)(p25;q14),12 p+,17q-.

nº18 46,XY/46,XY,del(4)(cen).

nº20 46,XX,der (1).

nº22 46,XY/46,XY,t(4;11)(q21;q23).

nº26 46,XY/53,XY.

nº31 52,XY.

nº43 46,XX.

nº51 46,XY.

nº53 46,XY.

nº56 46,XX/56,XX.

nº57 46,XY/54,XY.

nº58 46,XX,t(9;22)(q34;q11).

nº60 46,XY/52,XY,t(9;22)(q34;q11),t(9;22)(q34;q11),
+7,+8,+14?,+X,+Y,t(9;11)(p24;q21).

nº61 46,XX/52,XX.

n°62 TMO
 n°63 46,XX,t(9;22)(q34;q11),iso (9q).
 n°68 TMO.
 n°74 TMO.
 n°79 46,XX.
 n°82 TMO.
 n°85 46,XY.
 n°99 49,XY,+21,+21,+21.
 n°101 46,XY.
 n°102 46,XY.

Tipo L2

n°1 46,XY,DMS.
 n°5 46,XX.
 n°7 46,XY/46,XY,t(9;22)(q34;q11).
 n°14 46,XY/46,XY,t(9;22)(q34;q11).
 n°28 46,XY,+10,-14,del(9)(p13),t(11;14)(q23;q32)/47,+10,-14,+21,del(9)(p13),t(11;14)(q23;q32).
 n°29 86,XY.
 n°47 46,XX (remisión).
 n°55 44,XX,-9,-10,t(11;14)(p13;q11),4p+.
 n°59 46,XY.
 n°84 TMO.
 n°98 46,XY.
 n°100 46,XY.
 n°103 46,XY/48,XY,+5,+22.
 n°106 46,XY.

Tipo L3

nº64 47,XY,t(8;14)(q24;q32),+7.

nº83 46,XX.

Por grupos inmunológicos los cariotipos fueron los siguientes:

LLA en el adultoTipo B

nº6 46,XX

nº15 46,XX/49,XX,+8,+21,+X,t(4;11)(q21;q23).

nº21 46,XY,dup (1)(q21--q32),t(8;14)(q24;q32),del (18)(p12).

nº37 46,XX,-13,+t(13;13)(p11;q11).

nº42 Hiperdiploide >50,XX.

nº49 47,XY,t(8;14)(q24;q32),+der (1).

47,XY,t(8;14)(q24;q32),+der (1),der (5).

46,XY,-1,t(8;14)(q24;q32),+der (1),der(5).

46,XY,-1,t(8;14)(q24;q32),+der (1), der(5), del (4)(p14).

49,XY,-1,t(8;14)(q24;q32),+der1,M1,M2,M3.

nº52 47,XY,-15, dup (1)(q21--q32), T(8;14)(q24;q32), M1,M2.

nº96 46,XX/46,XX,t(8;14)(q24;q32).

Tipo T

- nº19 45,-8,-10,-22,del (5)(q11),del (6)(q21), der (9),del (11)(q13), del (13), 14q+, del (15), M1,M2.
- nº54 46,XY.
- nº76 TMO.
- nº81 46,XY.
- nº86 46,X,-X, t(3;4)(?;?), del (9)(q22), del (12)(p12), +mar.
- nº88 46,XY.
- nº90 46,XY.
- nº97 45,XX, mar.
- nº107 46,XY/47,XY,+D.

Tipo no T no B

- nº 16 46,XY/46,XY,+C,t(9;22)(q34;q11).
- nº 23 46,XX/46,XX,t(14;22)(q32;q11).
- nº 25 46,XY/hiperdiploidía.
- nº 27 46,XY/46,XY,t(5;20)(q15;q13),t(9;22)(q34;q11).
- nº 30 46,XY,del(11)(q23).
- nº 32 52,XX,anomalías estructurales.
- nº 33 46,XX,t(9;22)(q34;q11).
- nº 35 46,XX/64,XX,mar (9).
- nº 36 TMO
- nº 38 46,XX,t(9;22)(q34;q11).
- nº 39 46,XY.
- nº 40 46,XY.
- nº 41 46,XY,t(9;22)(q34;q11).
- nº 46 TMO.

- nº 48 46,XX/46,XX,t(9;22)(q34;q11).
- nº 50 46,XY/46,XY,t(9;22)(q34;q11)
/47,XY,t(9;22)(q34;q11),+C.
- nº 65 TMO.
- nº 67 TMO.
- nº 69 46,XX.
- nº 72 46,XX.
- nº 73 46,XX.
- nº 75 46,XX.
- nº 80 46,XY.
- nº 87 46,XX,t(11;14)(p13;q11).
- nº 89 47,XX,t(4;11)(q21;q23),+micro.
- nº 91 44,-3,-7,t(9;22)(q34;q11),inv(1)(p36;q31),del
(9)(p13),R.
- nº 92 46,XY,t(9;22)(q34;q11),inv (9).
- nº 93 46,XX.
- nº 94 46,XY/46,XY,t(9;22)(q34;q11).
- nº 95 47,XXY (constitucional).

Tipo Pre-B

- nº13 46,XY (remisión).
- nº66 46,XY,DMS.
- nº78 46,XY,t(9;22)(q34;q11).

LLA en el niño

Tipo B

- nº59 46,XY.
- nº64 47,XY,t(8;14)(q34;q11),+7.
- nº83 46,XX.
- nº103 46,XY/48,XY,+5,+22.

Tipo T

- nº2 46,XX/47,XX,+X,t(1;7)(p36;p15),t(5;9)(q33;p22).
 nº17 45,XY,-4,-10,+der (1),t(6;13)(p25;q14),12p+,17q-.
 nº47 46,XX (remisión).
 nº82 TMO.
 nº100 46,XY.
 nº106 46,XY.

Tipo no T no B

- nº1 46,XY,DMS.
 nº4 46,XX/46,XX,micro.
 nº7 46,XY/46,XY,t(9;22)(q34;q11).
 nº10 46,XY/46,XY,t(9;22)(q34;q11).
 nº11 46,XX,t(4;11)(q21;q23). del(12)(p11).
 nº14 46,XY/46XY,t(9;22)(q34;q11).
 nº18 46,XY/46,XY,del (4)(cen).
 nº22 46,XY/46,XY,t(4;11)(q21;q23).
 nº26 46,XY/53,XY.
 nº31 52,XY.
 nº34 46,XX.
 nº43 46,XX.
 nº53 46,XY.
 nº55 44,XX,-9,-10,t(11;14)(p13;q11),4p+.
 nº56 46,XX/56,XX.
 nº57 46,XY/54,XY.
 nº58 46,XX,t(9;22)(q34;q11).

- nº60 46,XY/52,XY,Ph,Ph,+7,+8,+14?,+X,+Y,t(9;11)(p24;q21).
 nº61 46,XX/52,XX.
 nº62 TMO.
 nº63 46,XX,t(9;22)(q34;q11),iso (9q).
 nº68 TMO.
 nº79 46,XX.
 nº84 TMO.
 nº98 46,XY.
 nº99 49,XY,+21,+21,+21.
 nº101 46,XY.
 nº102 46,XY.

E-CLASIFICACION CROMOSOMICA DE LOS CASOS PATOLOGICOS

Los casos patológicos se dividieron en : aquellos que mostraron todas sus metafases anormales (AA) y aquellos que conservaron línea cromosómica normal (AN) (fig. 10).

El total de casos AN fué de 29, de los cuales 17 correspondieron a la serie infantil y 12 a la de adultos. El total de casos AA fué de 31, de los cuales 10 correspondieron a la serie infantil y 21 a la de adultos.

La correlación de los casos AA y AN con el tipo morfológico de leucemia se puede observar en la tabla nº6 y Fig. 11.

Tabla nº6. Casos AA/AN en relación con la clasificación de la FAB.

Tipo FAB	nº casos patológicos	AA/AN
L1	24	11/13
L2	29	15/14
L3	7	5/2
Total	60	31/29

La correlación de los casos AA y AN con el tipo inmunológico se puede ver en la tabla nº 7 y Fig.12.

Tabla nº7. Casos AA/AN en relación con el fenotipo inmunológico.

Tipo inmunológico	nº casos patológicos	AA/AN
B	9	6/3
T	6	4/2
no T no B	36	14/22
PreB	2	2/-
Total	53	26/27

F- TIPO DE ANOMALIAS CROMOSOMICAS

Los casos se dividieron en : aquellos que presentaron solamente anomalías en el número de cromosomas, bien por ganancia (hiperdiploidía) o pérdida (hipodiploidía); aquellos en los que la alteración cromosómica fué de tipo estructural y aquellos en los que se encontraron ambas patologías : de número y estructura (mixtas) (fig 13 y 14).

El cariotipo que se encontró más frecuente fué aquel que solo presentaba anomalías de tipo estructural : 27 casos de los 60 patológicos. Le siguió en frecuencia, el cariotipo con anomalías de tipo mixto con 20 casos y por último, el

cariotipo que apareció con menor frecuencia, fué aquel en el que las anomalías cromosómicas solo fueron de tipo numérico: 13 casos.

La distribución de estas anomalías : de número, estructura y mixtas, en relación con la morfología según la clasificación de la FAB y en relación con el inmunofenotipo, se observa en las tablas nº 8 y 9 y figs. 15 y 16.

Tabla nº 8 . Tipo de anomalías cromosómicas en relación con la clasificación de la FAB.

Tipo FAB	Alt. nº	Alt. estructura	mixtas	Total
L1	7	11	6	24
L2	5	14	10	29
L3	1	2	4	7

Total	13	27	20	60

Tabla nº 9 . Tipo de anomalías cromosómicas en relación con el fenotipo inmunológico.

Tipo inmunológico	Alt. nº	Alt. estructura	mixtas	Total
B	2	3	4	
T	1		5	
no T no B preB	7	19	9	

En relación al número modal, los cariotipos se dividieron en pseudodiploides (número modal = 46), hiperdiploides (número modal > 46) e hipodiploides (número modal < 46).

Del total de casos patológicos 28 fueron pseudodiploides, 25 hiperdiploides y 7 hipodiploides. (Fig.17,18, 19 y 20).

La distribución de los casos hiper hipo y pseudodiploides se puede observar en las tablas nº 10 y 11.

Tabla nº10. Distribución en relación con la clasificación de la FAB.

<u>Tipo FAB</u>	<u>Hipodiploides</u>	<u>Hiperdiploides</u>	<u>Pseudodiploides</u>
L1	2	11	11
L2	5	9	15
L3	-	5	2

Total	7	25	28

Tabla nº 11. Distribución en relación al fenotipo inmrológico.

<u>Tipo inmrológico</u>	<u>Hipodiploides</u>	<u>Hiperdiploides</u>	<u>Pseudodiploides</u>
B	-	6	3
T	3	2	1
no T no B	2	15	18
preB			2

G~ ANOMALIAS CLONALES

1- Cromosomas implicados.

Los cromosomas que participaron en las anomalías numéricas y estructurales se recogen en las figuras nº 21 y 22 (se excluyeron las anomalías cuya identificación no fué precisa con la técnica de bandas G).

2-Anomalías estructurales.

El número y tipo de ellas, en cada grupo de leucemia aguda no linfoblástica, se pueden ver en la tabla nº 12.

Tabla nº 12. Anomalías estructurales en cada grupo de la FAB

Tipo FAB	Micro	Del.	Trans.	Inv.	Mar.	R.	DMS	Der. p+q+	Iso	Dup		
L1	1	5	17	1		1		2	1	1		
L2	1	6	19			6	2	4	2			
L3		2	4			3		3		2		

Total	2	13	40	1		9	1	2	9	3	1	2

En total se tipificaron 83 anomalías, siendo las más frecuentes las traslocaciones, que correspondieron a un 48% del total.

En la serie infantil, es de destacar que no se encontraron cromosomas marcadores.

2.1 Translocaciones

Los cromosomas que intervinieron en las translocaciones y el número de veces que se encontraron figuran en la tabla nº 13.

Tabla nº 13. Translocaciones encontradas en el estudio inicial.

TRANSLOCACION	N. DE VECES
t(1;7) (p36;p15)	1
t(3;4) (? ; ?)	1
t(3;5) (q22;?)	1
t(4;11) (q21;q23)	4
t(5;9) (q33;p22)	1
t(5;20) (q15;q13)	1
t(6;12) (p21;p23)	1
t(6;13) (p25;q24)	1
t(8;14) (q24;q32)	5

t(9;11)	(p24;q21)	1
t(9;22)	(q34;q11)	20
t(11;14)	(q23;q32)	1
t(11;14)	(p13;q11)	1
t(13;13)	(p11;q11)	1
t(13;14)	(q14;q32)	1
t(14;22)	(q32;q11)	1

De las 16 translocaciones tipificadas al inicio de la enfermedad, 5 correspondieron a las denominadas específicas y 2 se consideraron variantes de estas. Las restantes fueron nuevas translocaciones.

2.2 Deleciones

El número total de cromosomas con deleción fué de 13. La única deleción que se repitió fué la del cromosoma 9 en el punto p13. Los cromosomas delecionados y los puntos de rotura se pueden observar en la tabla nº14.

Tabla nº 14. Deleciones cromosómicas.

Cromosoma	punto de rotura
4	p14
4	cen
5	q11
6	q21
9	p13
9	q22
11	q13
11	q23
12	p11
12	p12
17	q-
18	p12

Todas las deleciones fueron de tipo terminal.

2.3 Otras anomalías estructurales

Se observaron 9 cromosomas marcadores y 9 cromosomas derivados. Otros tipos de anomalías fueron menos frecuentes : p+ y q+ aparecieron en 3 ocasiones; DMS, duplicaciones, microcromosomas y anillos, 2 veces ; inversiones, anillos e isocromosomas 1 vez.

El cromosoma que más participó en estas anomalías fué el cromosoma 1, del que se observaron duplicaciones, una inversión y cromosomas derivados.

H-PUNTOS DE ROTURA CROMOSOMICA EN EL TOTAL DE LA SERIE.

- 1- p36,p36,q21,q21,q31,q32,q32.
- 2
- 3- q22,qter.
- 4- pter,p14,cen,q21,q21,q21,q21.
- 5- p22,q11,q15,q33.
- 6- p25,p21,q21.
- 7- p15.
- 8- q24,q24,q24,q24,q24.
- 9- p13,p13,p13,p24,cen,q11,q22,q34.
- 10-
- 11- pter,p13,p13,q13,q21,q23,q23,q23,q23,q23,q23.
- 12- pter,p11,p12,p13.
- 13- p11,q11,q14,q14.
- 14- q11,q11,q32,q32,q32,q32,q32,q32,q32,q32,qter.
- 15
- 16
- 17
- 18- p12
- 19
- 20- q13
- 21

22- q11,q11,q11,q11,q11,q11,q11,q11,q11,q11,q11,q11,
q11,q11,q11,q11,q11,q11,q11,q11.

X

Y

El número total de puntos de rotura identificados en nuestra serie fué de 106, restringidos a 41 bandas de las que componen el cariotipo standar.

I.- EVOLUCION DEL CARIOTIPO POSTRATAMIENTO QUIMIOTERAPICO.

Se estudiaron 26 enfermos a lo largo de la enfermedad (tabla nº 15). De ellos 17 fueron estudiados en el momento de la remisión completa, 1 en remisión parcial, 6 en recaída y en 2 se hicieron estudios en remisión y recaída.

Tabla nº 15. Evolución del cariotipo postratamiento quimioterápico.

nº	FAB	T.inmulógico	I/A	C.inicial	C.remisión	C.recaída
2	L1	T	I	AA		AA
5	L2	-	I	NN	NN	
6	L2	B	A	NN	NN	
8	L1	-	I	NN	NN	
9	L2	-	A	AN	NN	
10	L1	N	I	AN	NN	
12	L2	-	A	AN	NN	
16	L1	N	A	AN		AN
19	L2	T	A	AA	NN	
21	L3	B	A	AA	NN	
23	L2	N	A	AN	NN	
27	L1	N	A	(ver tabla nº)		
29	L2	-	I	AA	NN	

30	L1	N	A	AA	NN	
32	L2	N	A	AA		AA
37	L2	B	A	AA		AA
40	L1	N	A	NN	NN	
48	L2	N	A	AN	NN	AN+
50	L2	N	A	AN	NN	
60	L1	N	I	AN		AN
86	L2	T	A	AA	NN	
87	L2	N	A	AN	NN	
94	L2	N	A	AN	AN (RP)	
95	L2	N	A	NN		AA
99	L1	N	I	AA	NN	
105	L2	-	A	AN	NN	

J.- EVOLUCION DEL CARIOTIPO POSTRASPLANTE DE MEDULA OSEA.

La evolución citogenética de los casos de leucemia sometidos a trasplante de médula ósea ofrece unas características especiales, por lo que los consideramos en capítulo independiente del apartado anterior.

Tabla nº 16. Evolución del cariotipo postrasplante de médula ósea.

Nº caso	C. pretrasplante	C. postrasplante	C.Recaída
36	V.	46,XX	
38	Ph	46,XX	
43	46,XX	46,XY	
46	H	46,XY	
62	V.	46,XX	
65	V.	46,XX	
67	V.	46,XX	

68	Ph	46,XY		
70	H.	46,XY		
74	V	46,XX	46,XX	46,XX/46,XY
76	V.	46,XX		
77	Ph	46,XX		
82	V.	46,XX		
84	V.	46,XY		
91	AA	46,XY		
106	V.	46,XY		

Se estudiaron 16 casos postrasplante de médula ósea. Como referimos al inicio, 11 casos solo fueron estudiados postrasplante de médula ósea. En 5 se hizo el estudio al inicio y postrasplante.

K.- DIFERENCIAS EN LOS RESULTADOS SEGUN LOS METODOS UTILIZADOS.

El número de casos en los que se realizó más de un cultivo simultáneo fué de 15. La única diferencia existente, fué la variación en la proporción de la línea patológica en un caso. En este enfermo, se encontró cromosoma Philadelphia en el 20% de las metafases en el estudio directo, y en el 75% de las metafases, en el estudio con Metrothexate.

L.- ANOMALIAS CONSTITUCIONALES

En el total de la serie, solo aparecieron 2 casos con anomalías constitucionales (casos nº 92 y 95). En uno de ellos (caso nº 92), la anomalía consistió en una variante polimórfica sin repercusión clínica aparente; en el otro (caso nº 95), la alteración cromosómica afectó al par sexual. En la tabla nº 17, podemos observar a que grupo correspondieron estos casos y las anomalías adquiridas que se asociaron a la constitucional.

Tabla nº 17. Casos con anomalías constitucionales.

Tipo FAB	Tipo inmunológico	A. constitucional	A. adquirida
L1	no T no B	inv (9)	Ph
L2	no T no B	47,XYX	+C(evolutiva)

M.- TRANSLOCACIONES ESPECIFICAS

De las translocaciones consideradas específicas de las leucemias, encontramos 4 casos con translocación (4;11)(q21;q23); 5 casos con translocación (8;14)(q24;q32); 20 casos con translocación (9;22)(q34;q11); 1 caso con translocación (11;14)(q23;q32) y 1 caso con translocación (11;14)(p13;q11).

La distribución de estos encefalomas en relación con la morfología o inmunología, la edad, el sexo, % de la translocación y las anomalías asociadas, se pueden ver en las tablas nº 18, 19, 20, 21 y 22.

Tabla nº 18 . Casos con translocación 4;11

Nº	SEXO	EDAD	T.FAB	T.INMULOGICO	A.ASOCIADAS	% t(4;11)
11	H	2	L1	no T no B	del(12)(p11)	100
15	H	48	L3	B	+8,+21,+X	90
22	V	2	L1	no T no B	-	18
89	V	26	L2	no T no B	+ micro	100

Tabla nº 19 . Casos con translocación 8;14

Nº	SEXO	EDAD	T.FAB	T.INMULOGICO	A.ASOCIADAS	% t(8;14)
21	V	17	L3	B	dup(1),del(18)	100
49	V	42	L3	B	der(1),der(5) del(4),mar	100
52	V	27	L3	B	dup(1),mar -15	100
64	V	4	L3	B	+7	100
96	H	19	L3	B	-	100

Tabla nº 20. Casos con traslocación 9;22.

Nº	SEXO	EDAD	T.FAB	T.INMULOGICO	A.ASOCIADAS	% t(9;22)
7	V	14	L2	no T no B	-	16
10	V	4	L1	"	-	18
14	V	8	L2	"	-	20(MD) 75(Mtx)
16	V	55	L1	"	+C	20
27	V	52	L1	"	t(5;20)	92
33	H	53	L2	"	-	100
38	H	34	L2	"	-	100
41	V	29	L2	"	-	100
48	H	28	L2	"	-	95
50	V	58	L2	"	+C	80
58	V	12	L1	"	-	100
60	H	12	L1	"	Ph,+7,+8,+14,+X,+Y,10 t(9;11)8p24;q21)	
63	H	8	L1	"	iso (9q)	100
77	V	20	L1	-	-	100
78	V	35	L2	preB	-	100
91	H	29	L1	no T no B	-3,-7,inv(1), del (9),R	100
92	V	19	L1	"	inv(9)	100
94	V	52	L2	"	-	95
104	V	70	L2	-	-	90

Tabla nº21. Casos con t(11;14)(q23;q32)

Nº	SEXO	EDAD	T.FAB	T INMULOGICO	A.ASOCIADAS	%
28	V	8	L2	-	+10,-14,Del(9) +21	100

Tabla nº22. Casos con t(11;14)(p13;q11)

Nº	SEXO	EDAD	T.FAB	T.INMULOGICO	A.ASOCIADAS	%
87	H	19	L2	no T no B	-	100

N.- ANOMALIAS CROMOSOMICAS UNICAS

Las anomalías numéricas que solo afectaron a un cromosoma se redujeron, a una monosmía 21 y una trisomía 13.

En cuanto a las anomalías estructurales que se presentaron como única alteración, aparecieron las que se reflejan en la tabla nº23.

Tabla nº 23. Anomalías estructurales únicas

der (1)
del (4)
t (4;11)
t (8;14)
t (9;22)
del (11q23)
t (11;14)
t (13;13)
t (14;22)

Distribución por edades (Total casos 107)

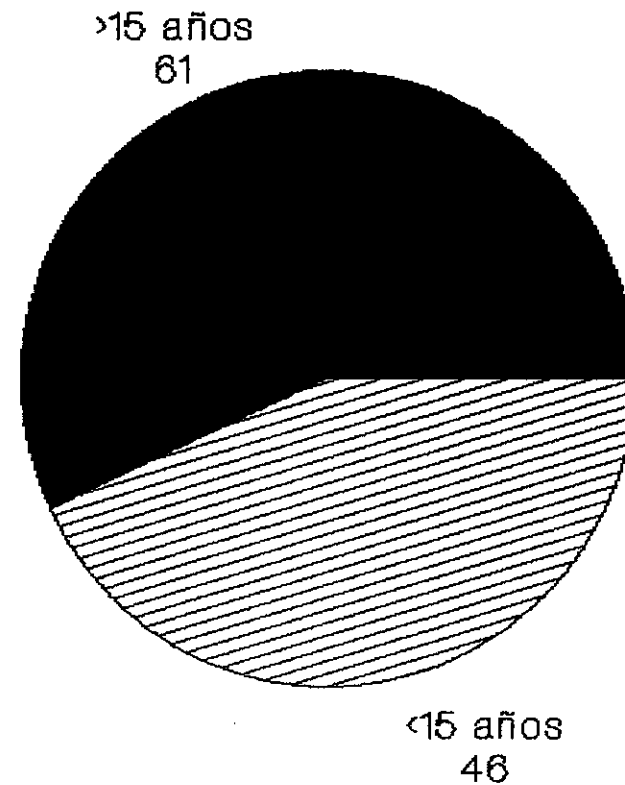
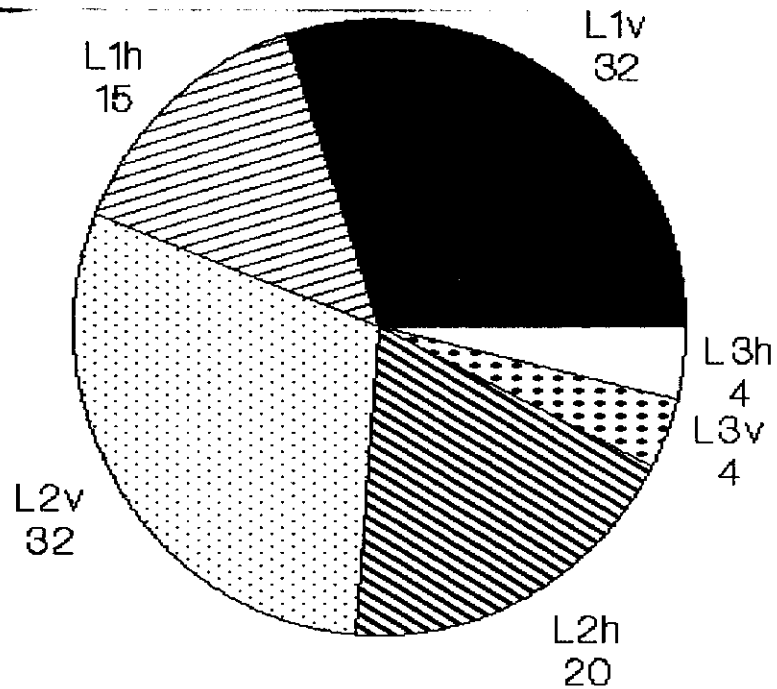


Fig. 1

Nº Casos. Clasificación FAB

(Total casos 107)



v-varón; h-hembra

Fig. 2

Tipo inmunológico (Total casos 107)

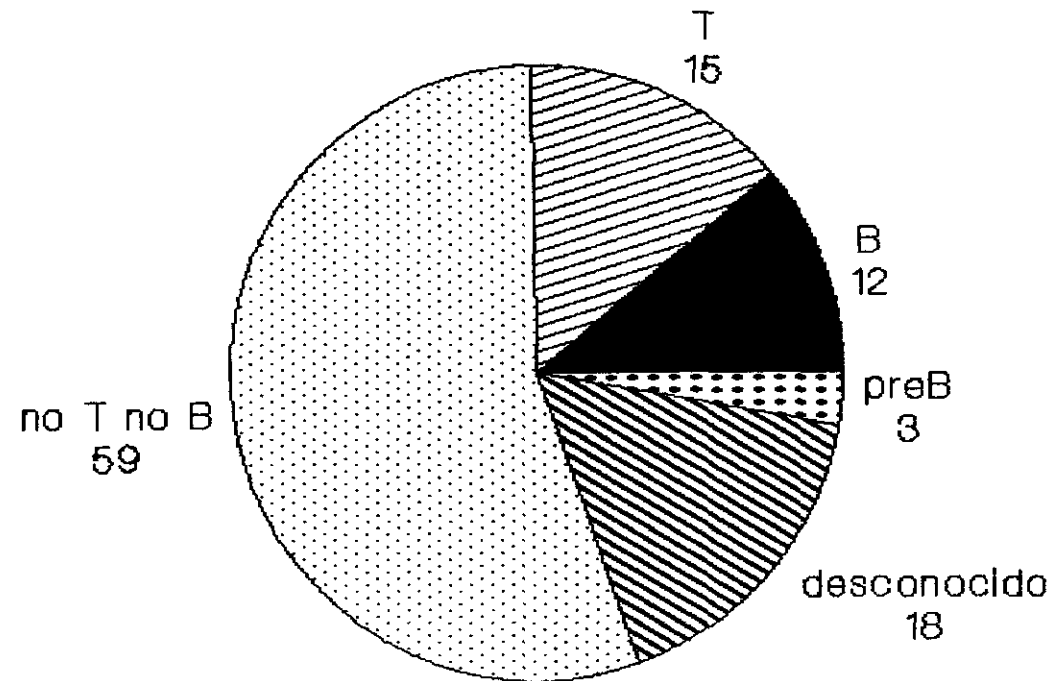


Fig. 3

Distribución de casos patológicos (Total de casos 94)

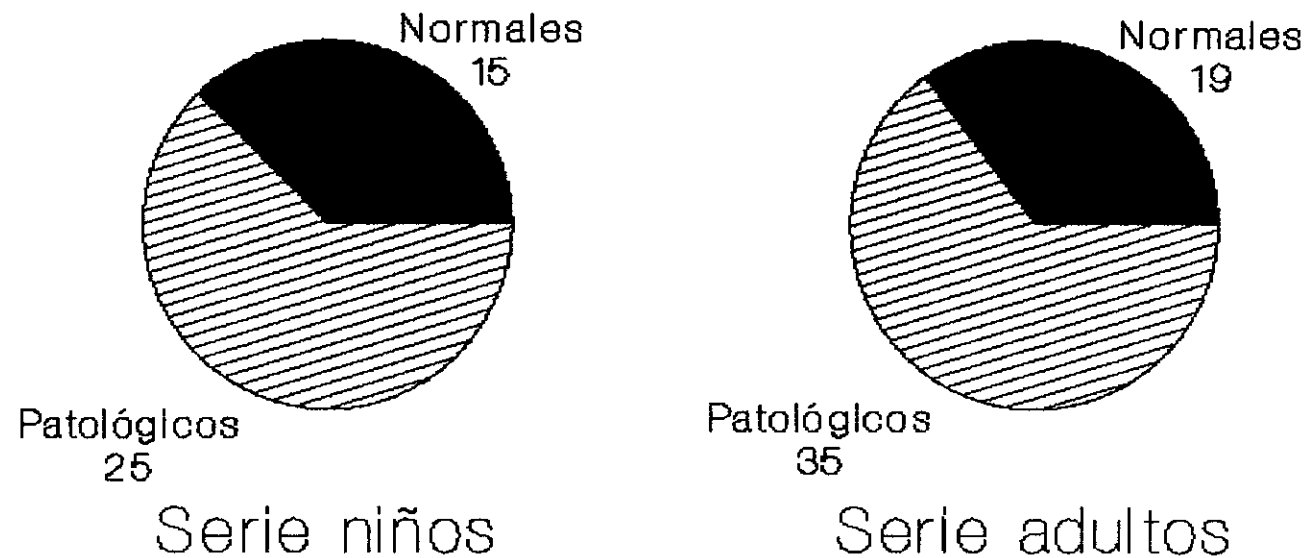


Fig. 4

Nº casos patológicos en cada grupo FAB

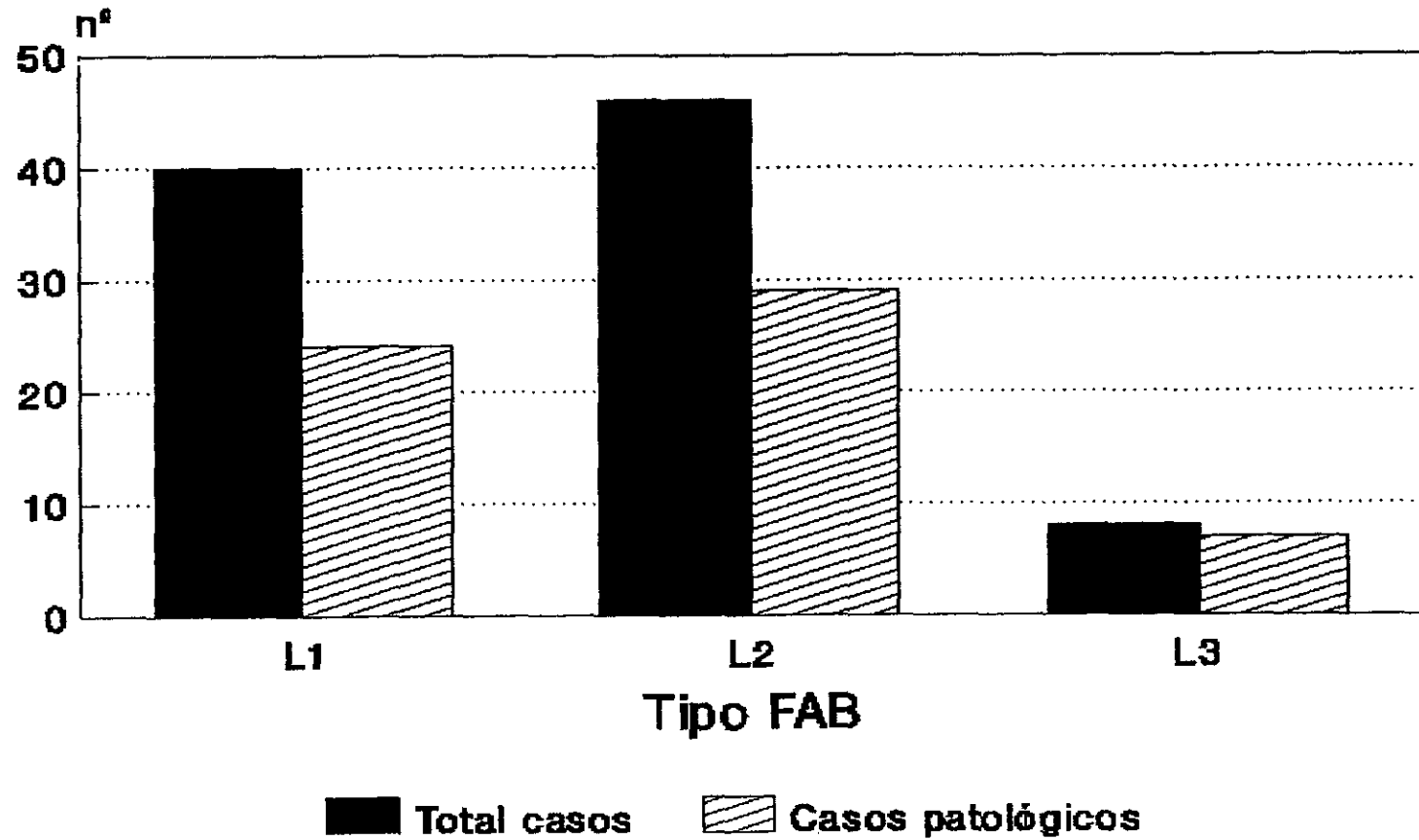
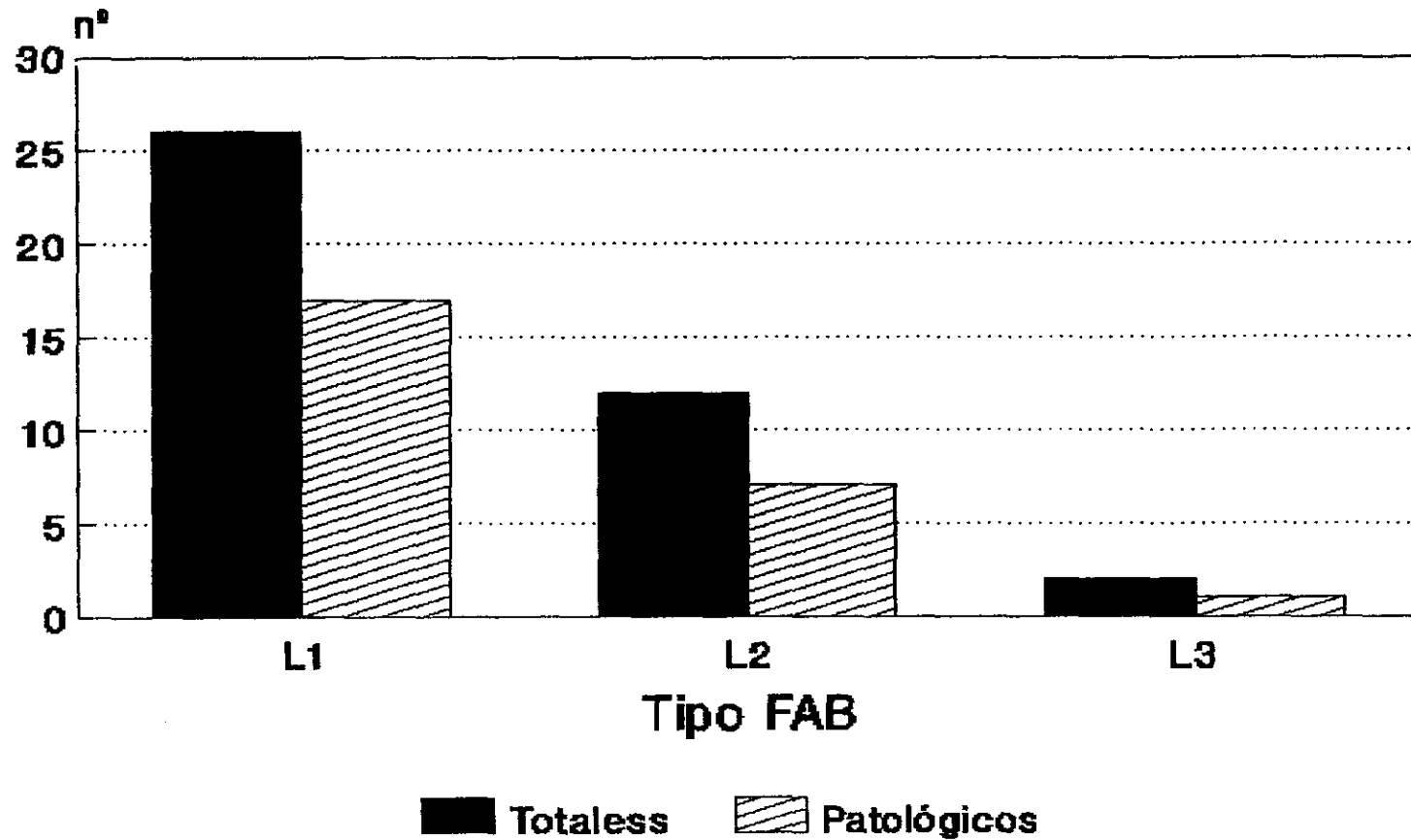


Fig. 5

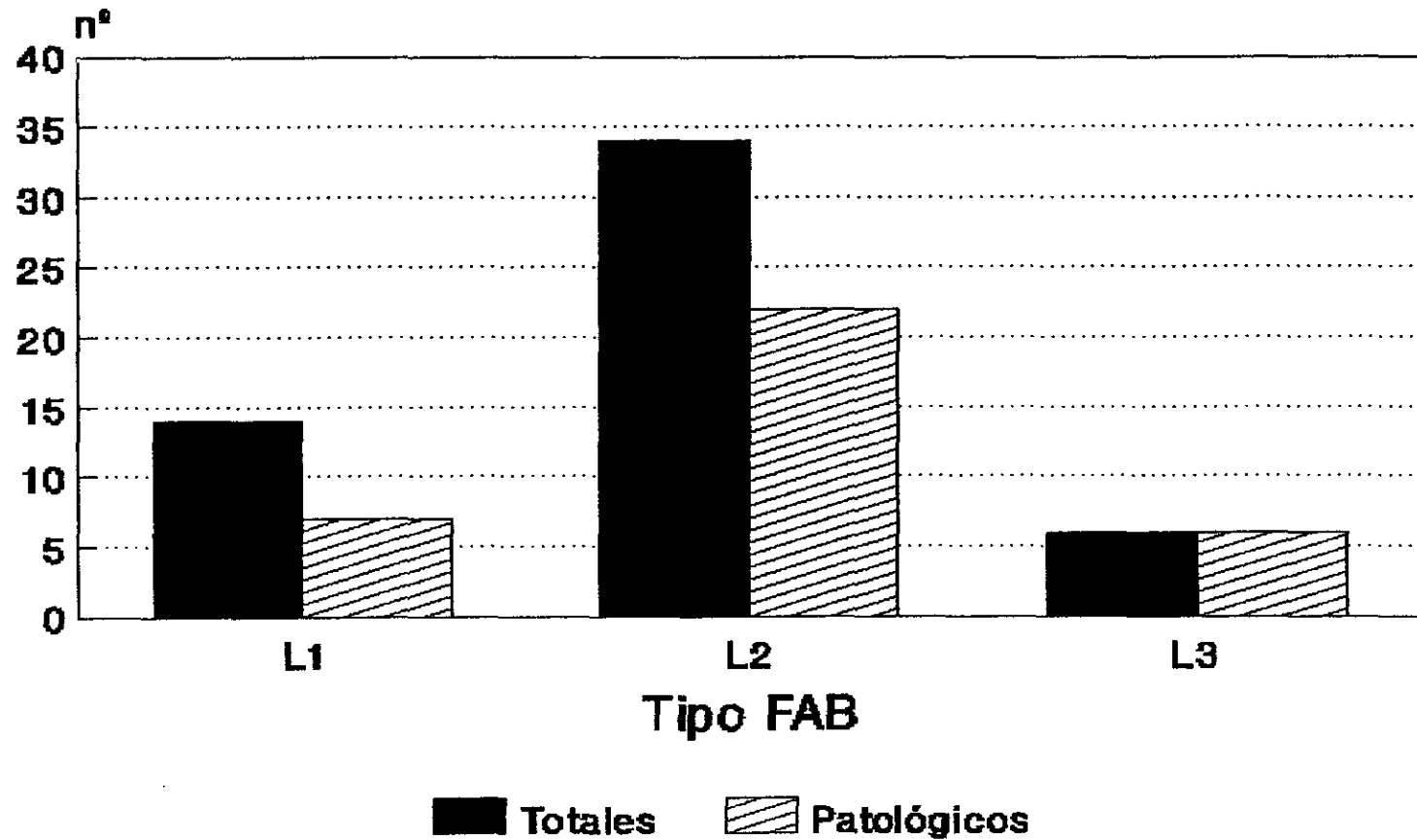
Nº casos patológicos y FAB (serie niños)



(Total casos 42)

Fig. 6

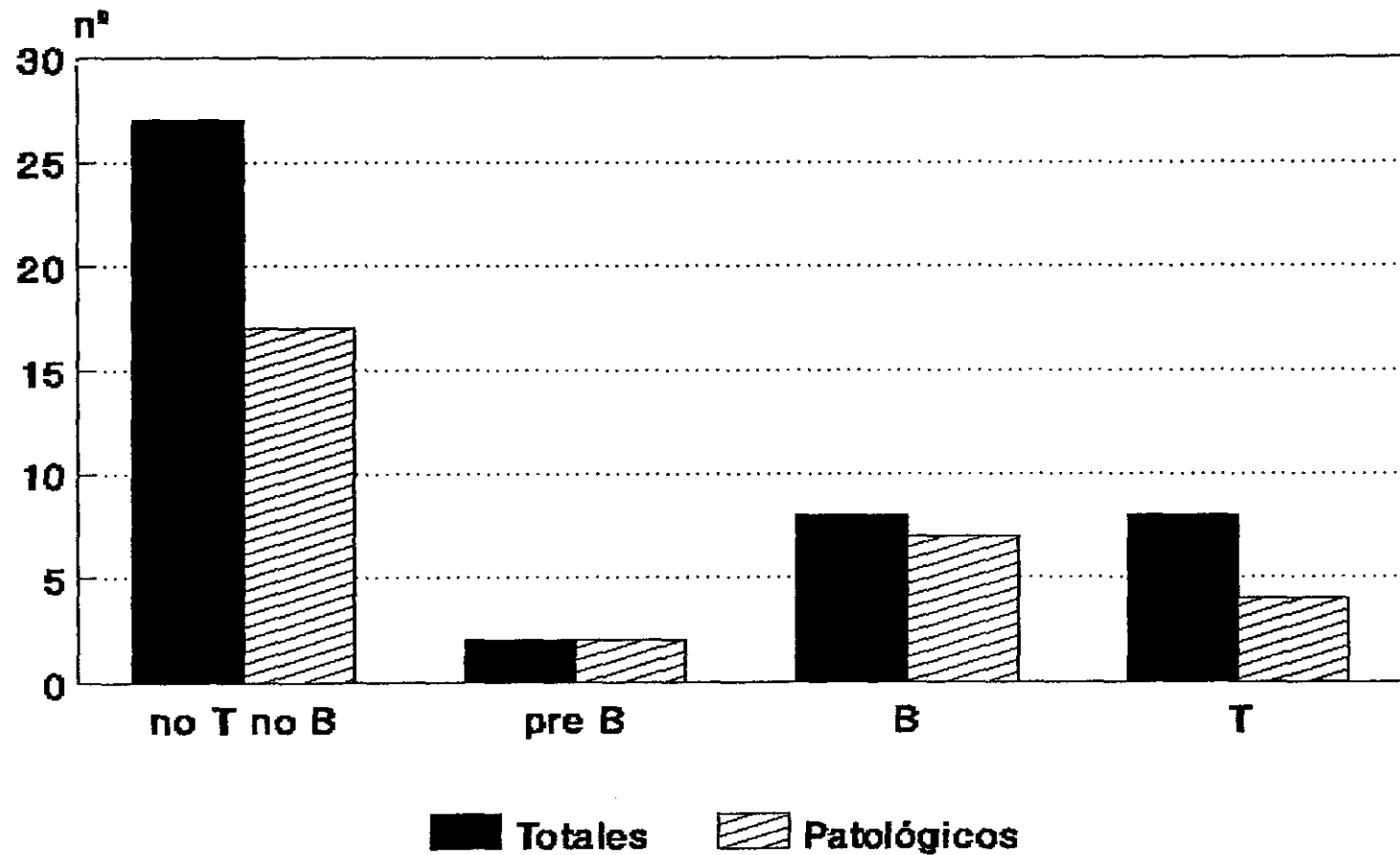
Nº casos patológicos y FAB (serie adultos)



(Total casos 52)

Fig. 7

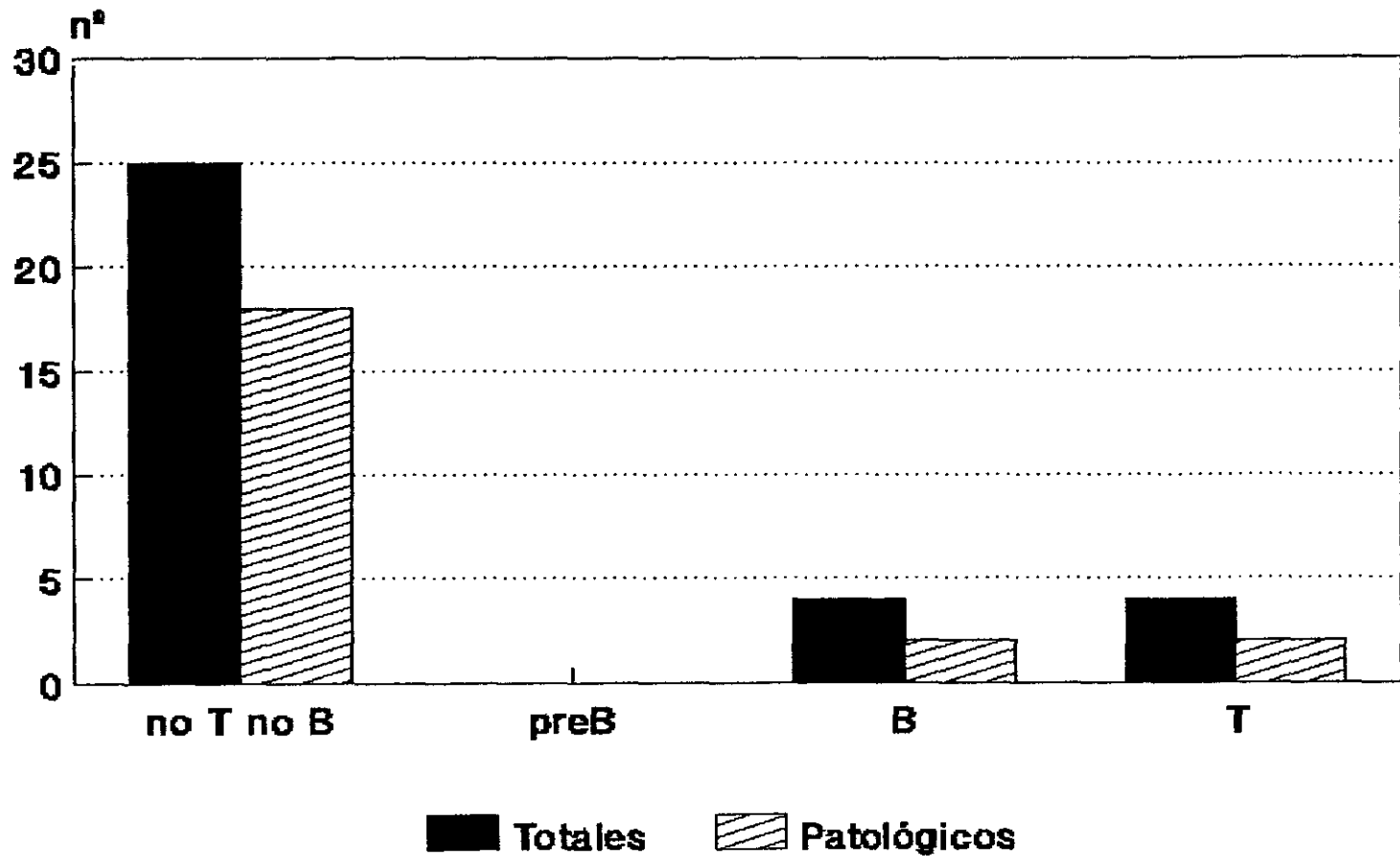
Nº de casos patológicos en cada grupo inmunológico (serie adultos)



(Total casos 45)

Fig. 8

Nº de casos patológicos en cada grupo inmunológico (serie niños)

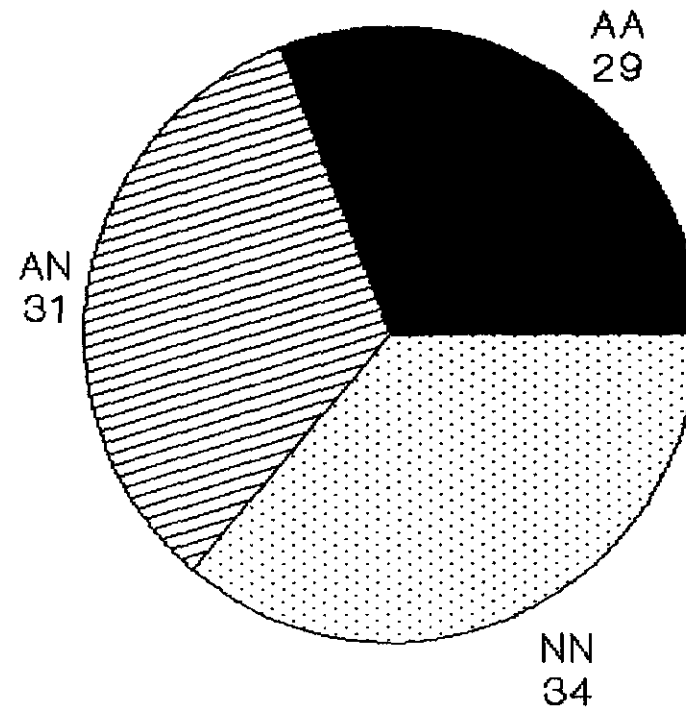


(Total casos 33)

Fig. 9

CASOS AA/AN/NN

(Total casos 107)



AA-Todas las metafases anormales
AN-Metafases anormales y normales
NN-Todas las metafases normales

Fig. 10

Distribución en relación con la FAB (Total casos 94)

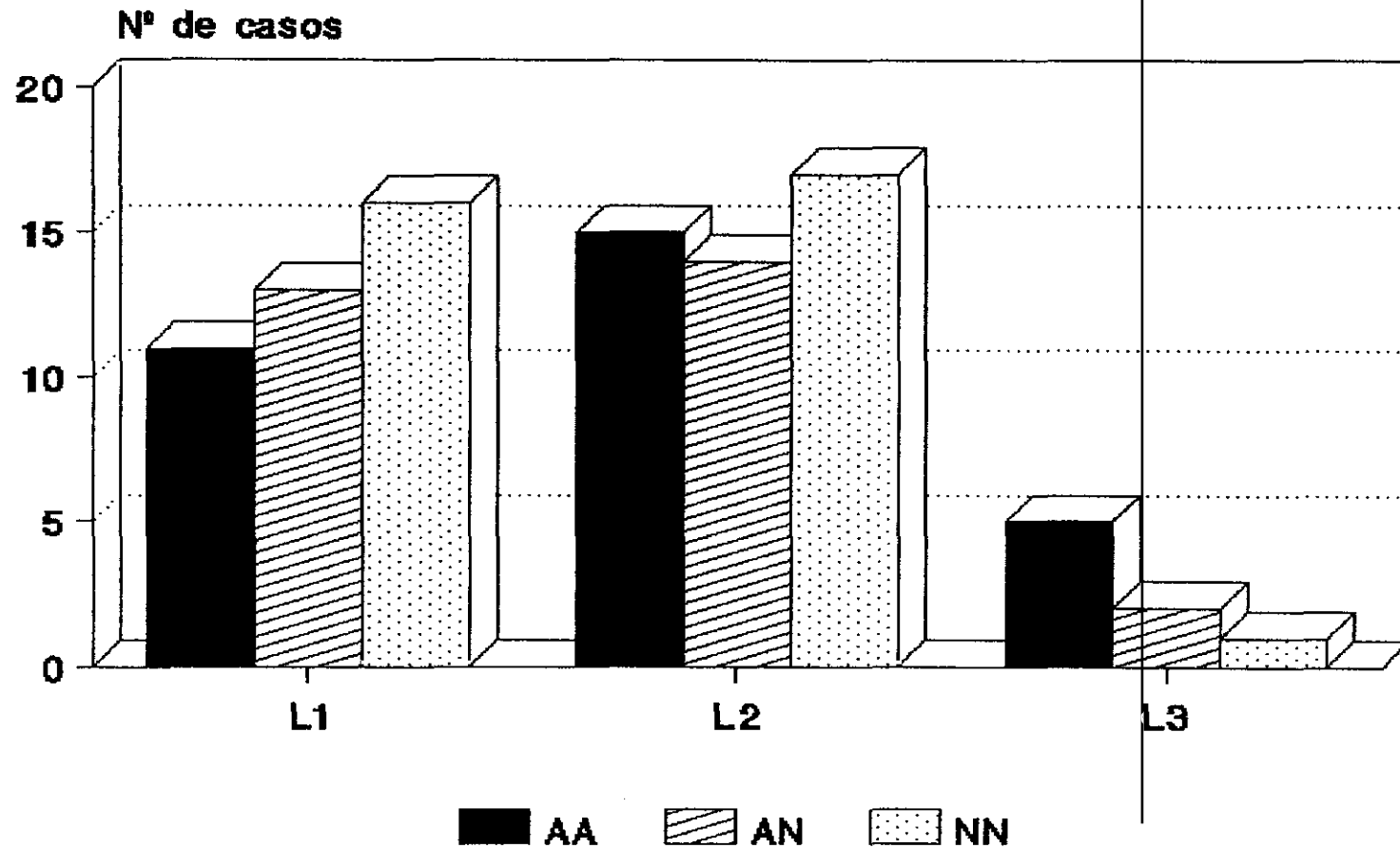
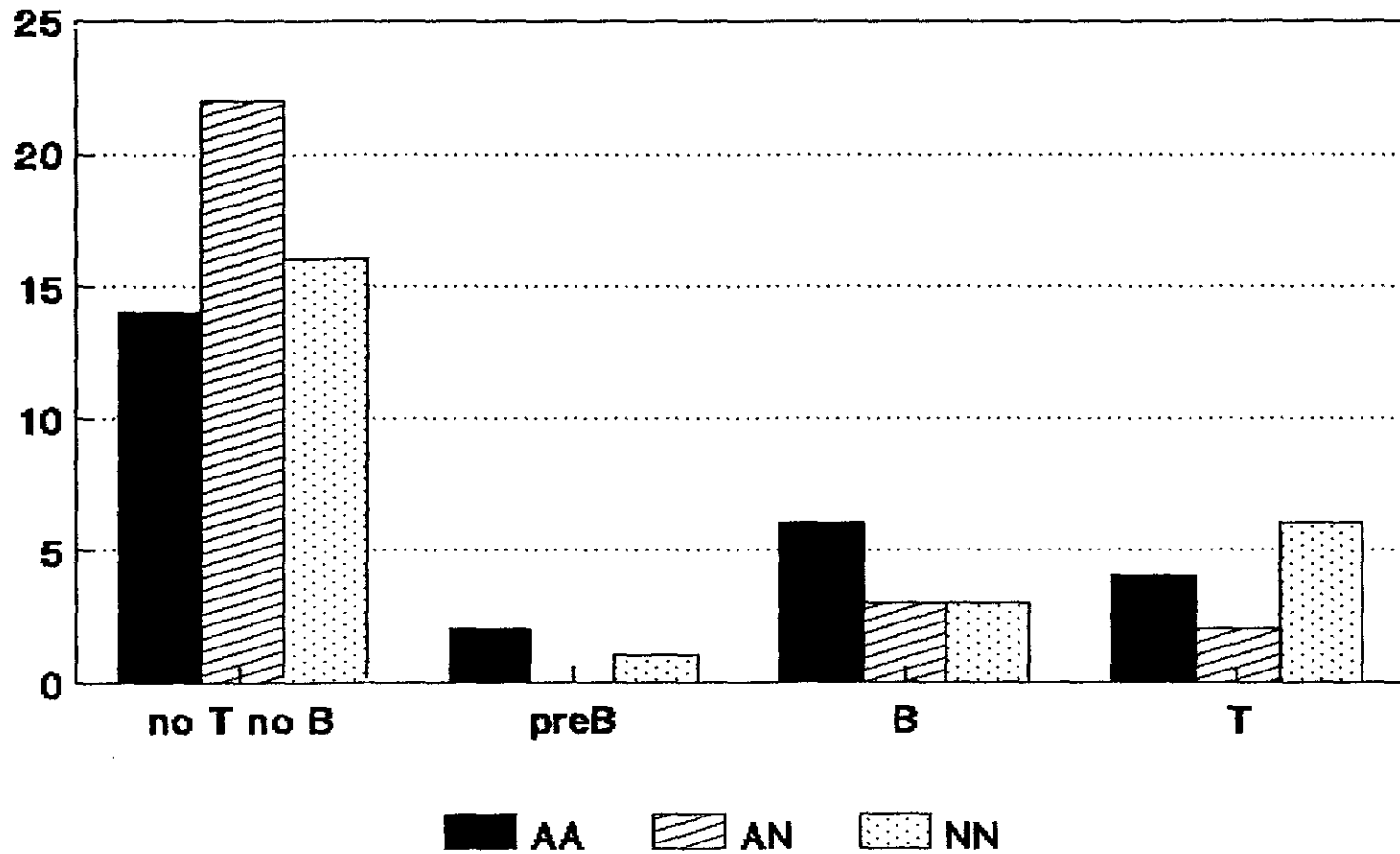


Fig. 11

Distribución según inmunofenotipo (Total casos 78)



16 sin estudio inmunológico

Fig. 12

Distribución según el tipo de anomalía (Total de casos patológicos 60)

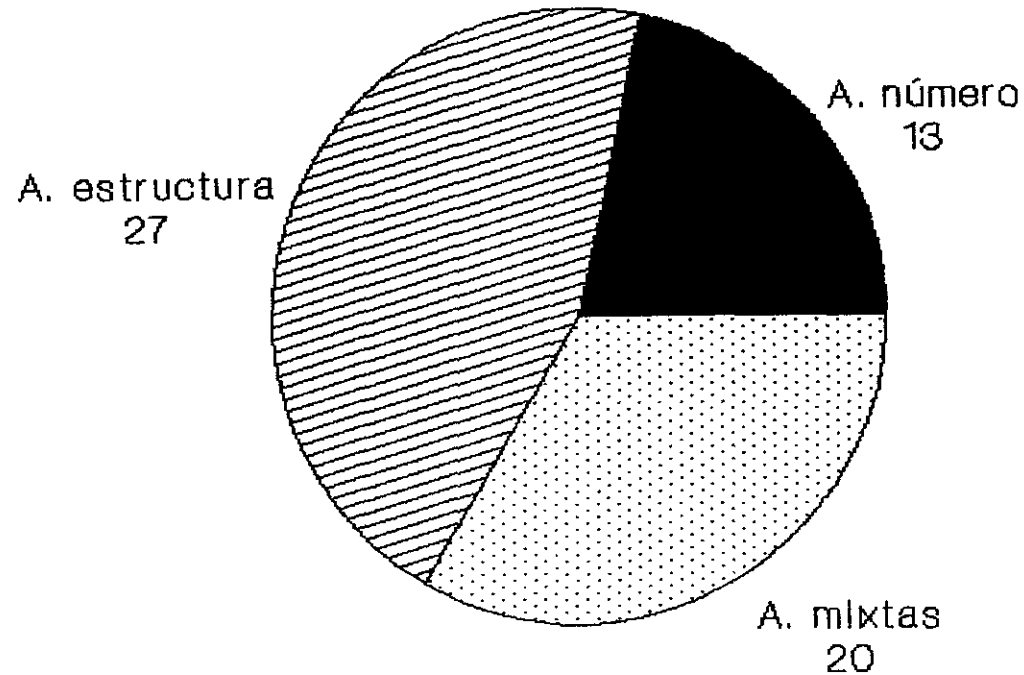
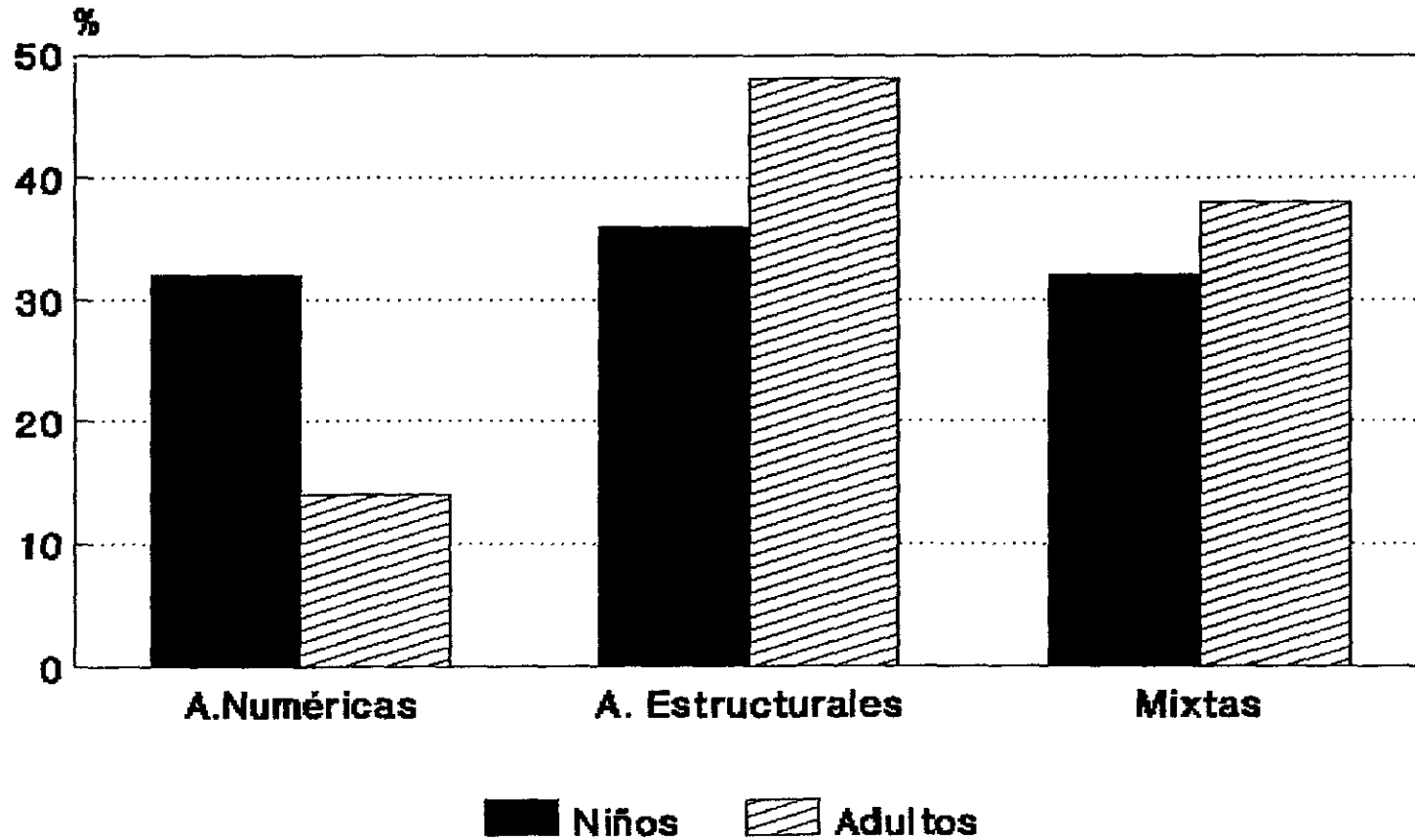


Fig. 13

Tipo de Anomalía

(Total casos patológicos 60)



Niños 25/Adultos 35

Fig. 14

Tipo de anomalía y FAB

(Total de casos patológicos 60)

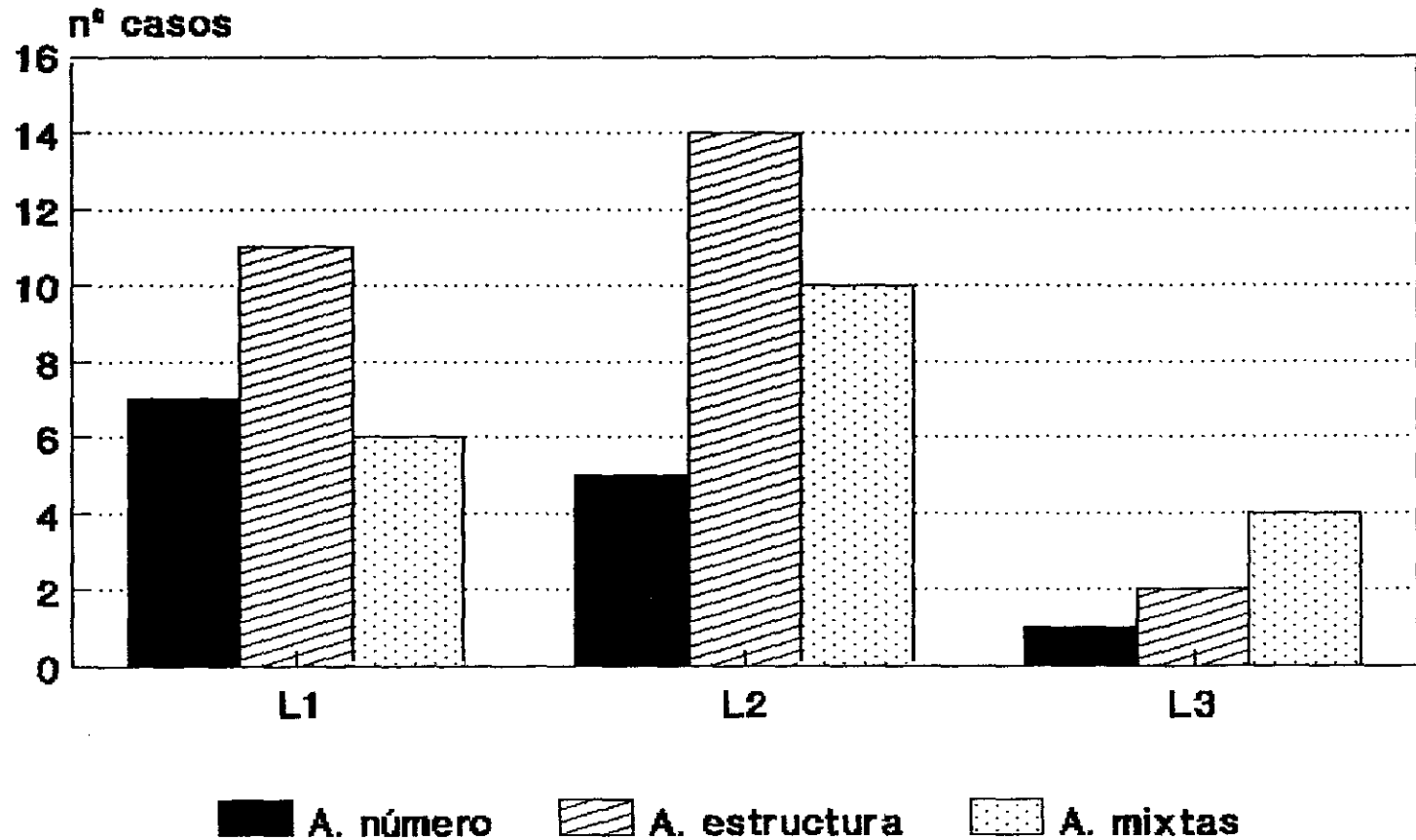


Fig. 15

Tipo de anomalía e inmunofenotipo (total de casos patológicos 52)

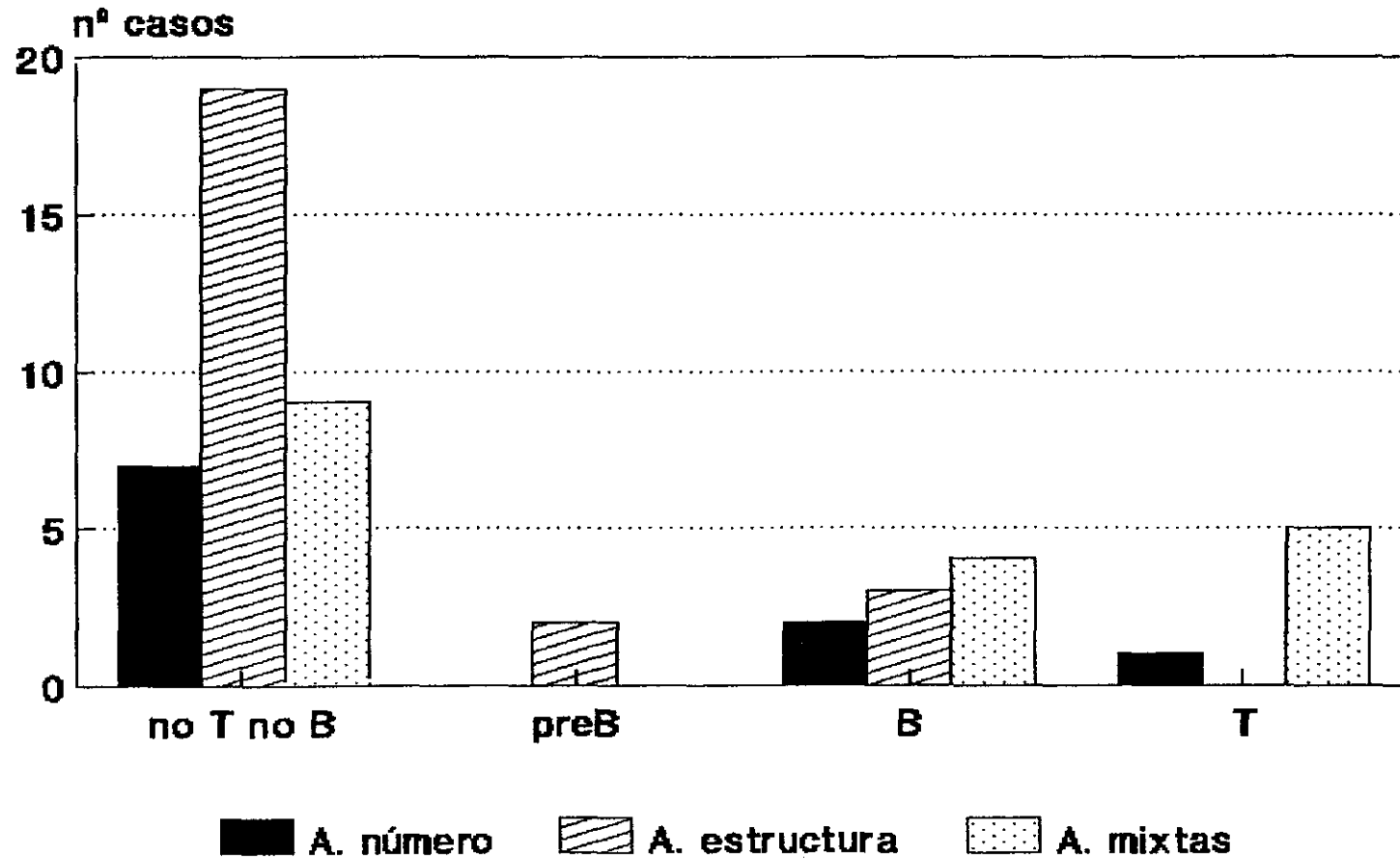


Fig. 16

Distribución según el número cromosómico (Total casos patológicos 60)

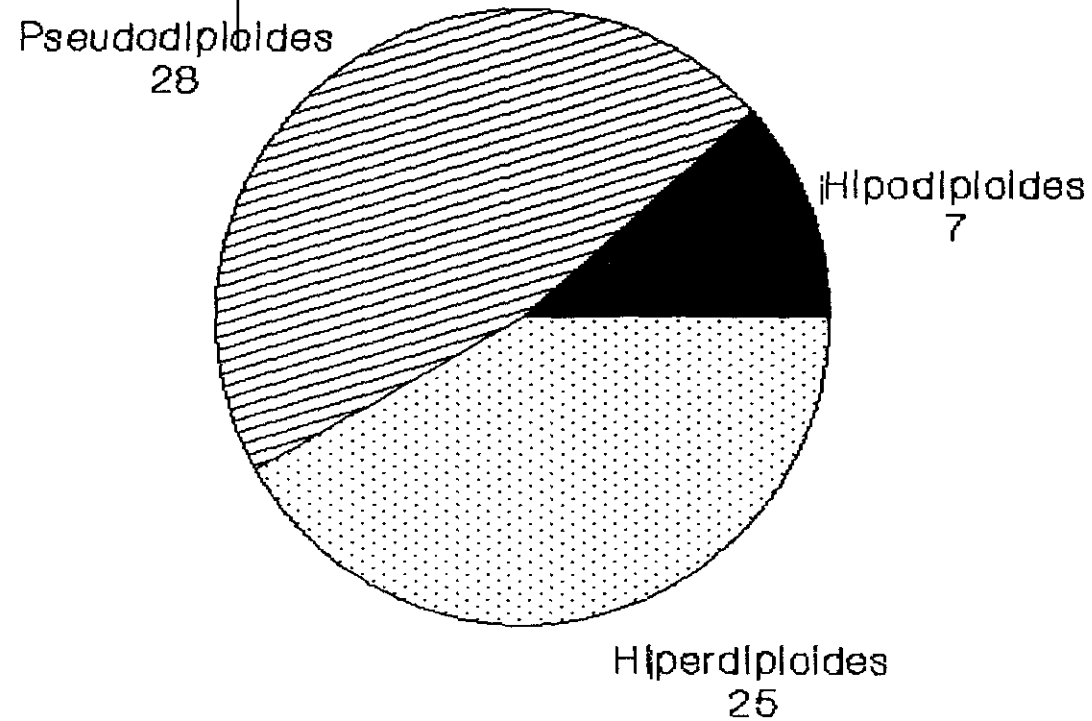
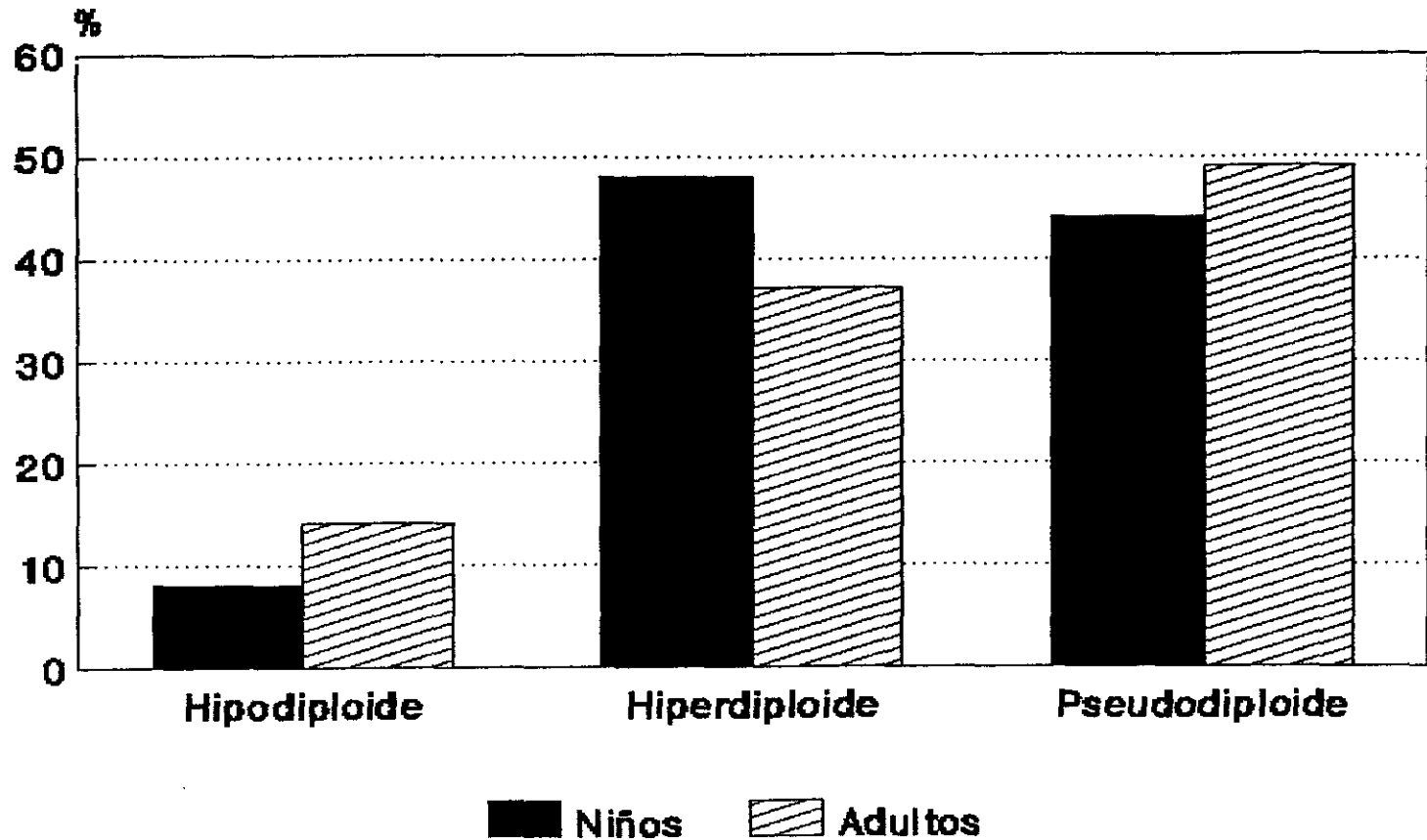


Fig. 17

Número cromosómico (Total casos patológicos 60)



Niños 25/Adultos 35

Fig. 18

Anomalías numéricas y tipo FAB

(Total de casos patológicos 60)

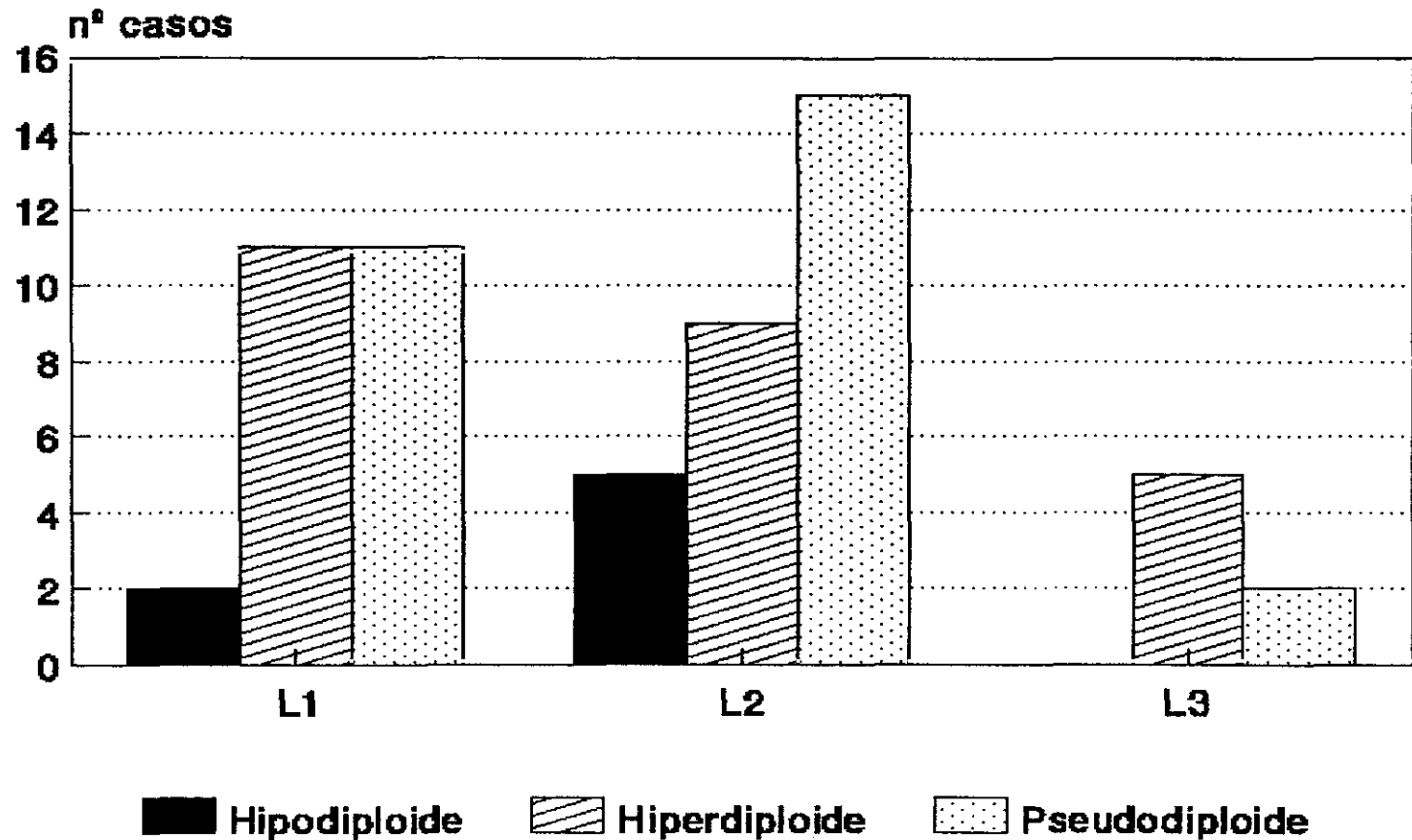


Fig. 19

Inmunofenotipo y anomalías numéricas (Total casos patológicos 52)

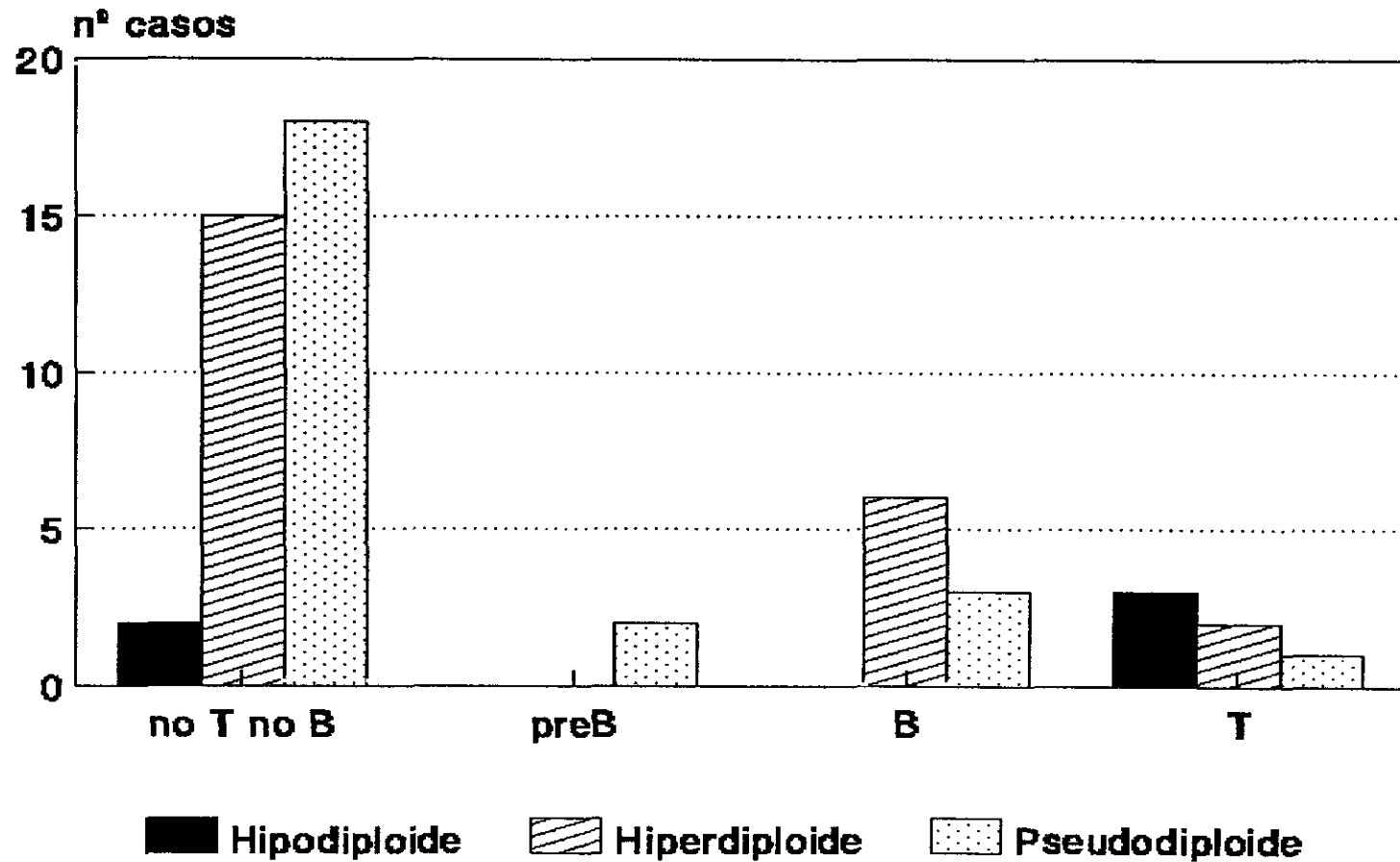


Fig. 20

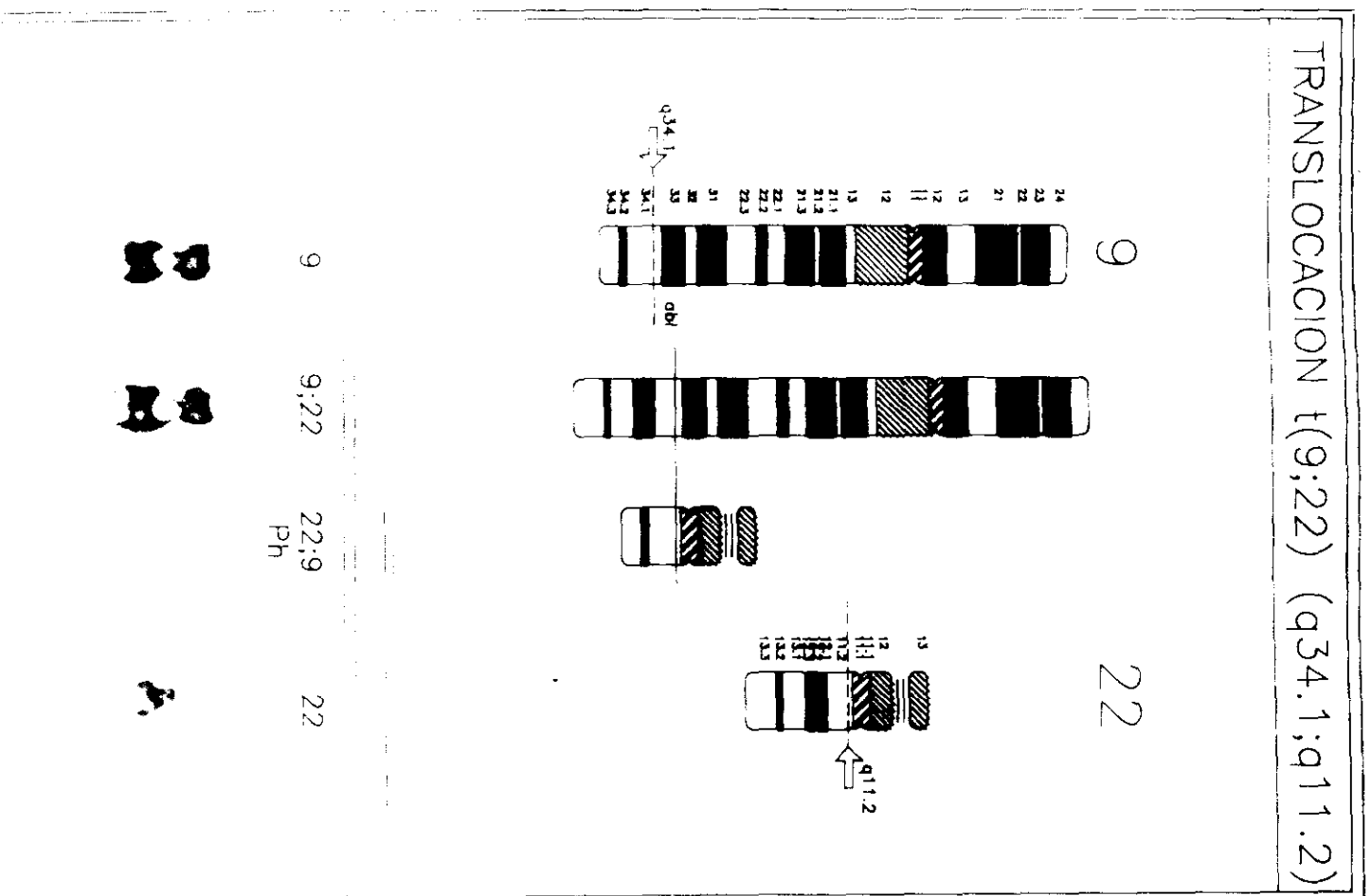


Fig. 21- Esquema Y cariotipo parcial mostrando la translocación (9;22) (q34;q11).

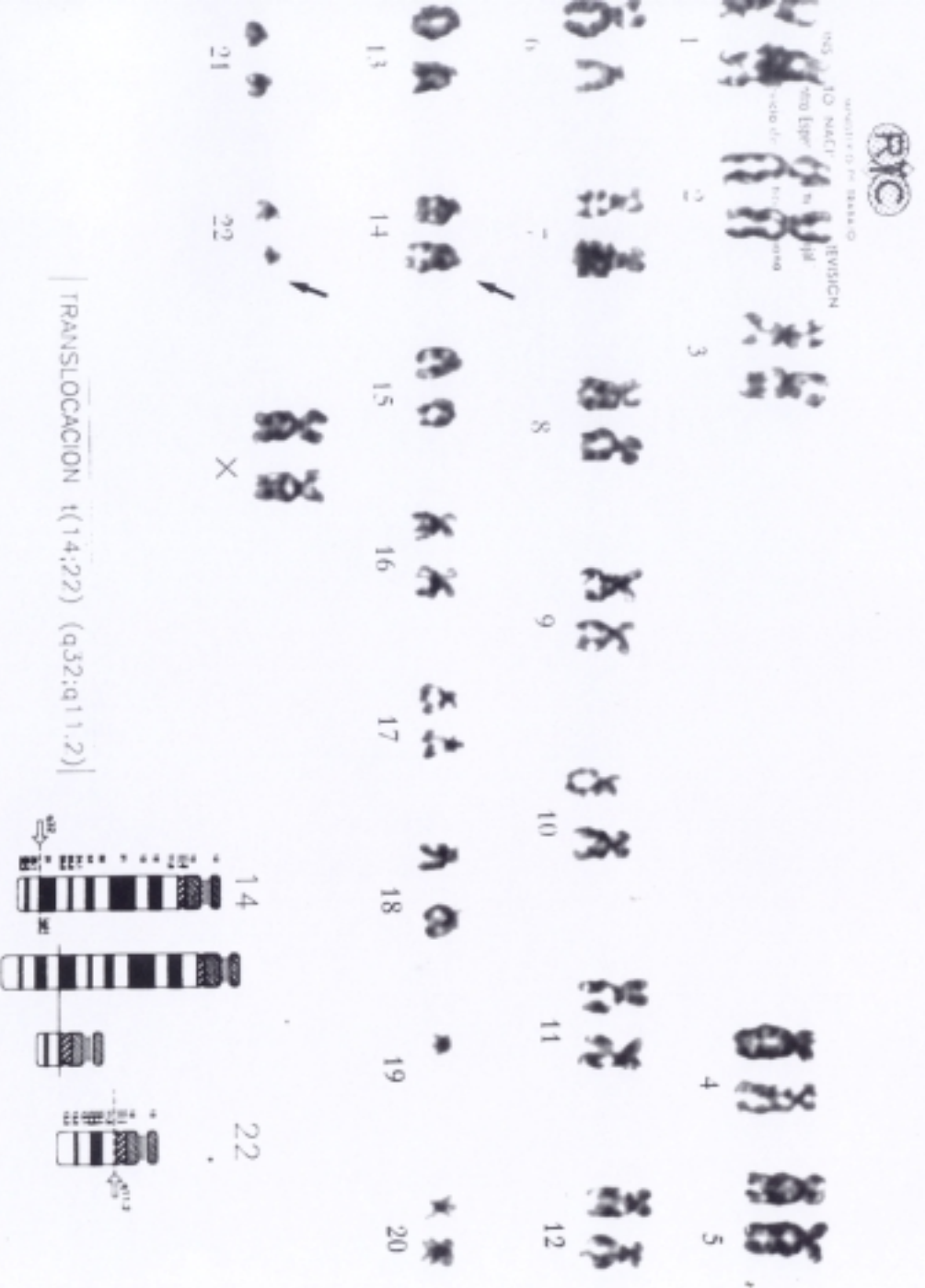


Fig.22- Cariotipo con bandas G mostrando la variante del cromosoma Philadelphia (14;22)(q32;q11). En el cuadrante inferior derecho representación esquemática de esta translocación.

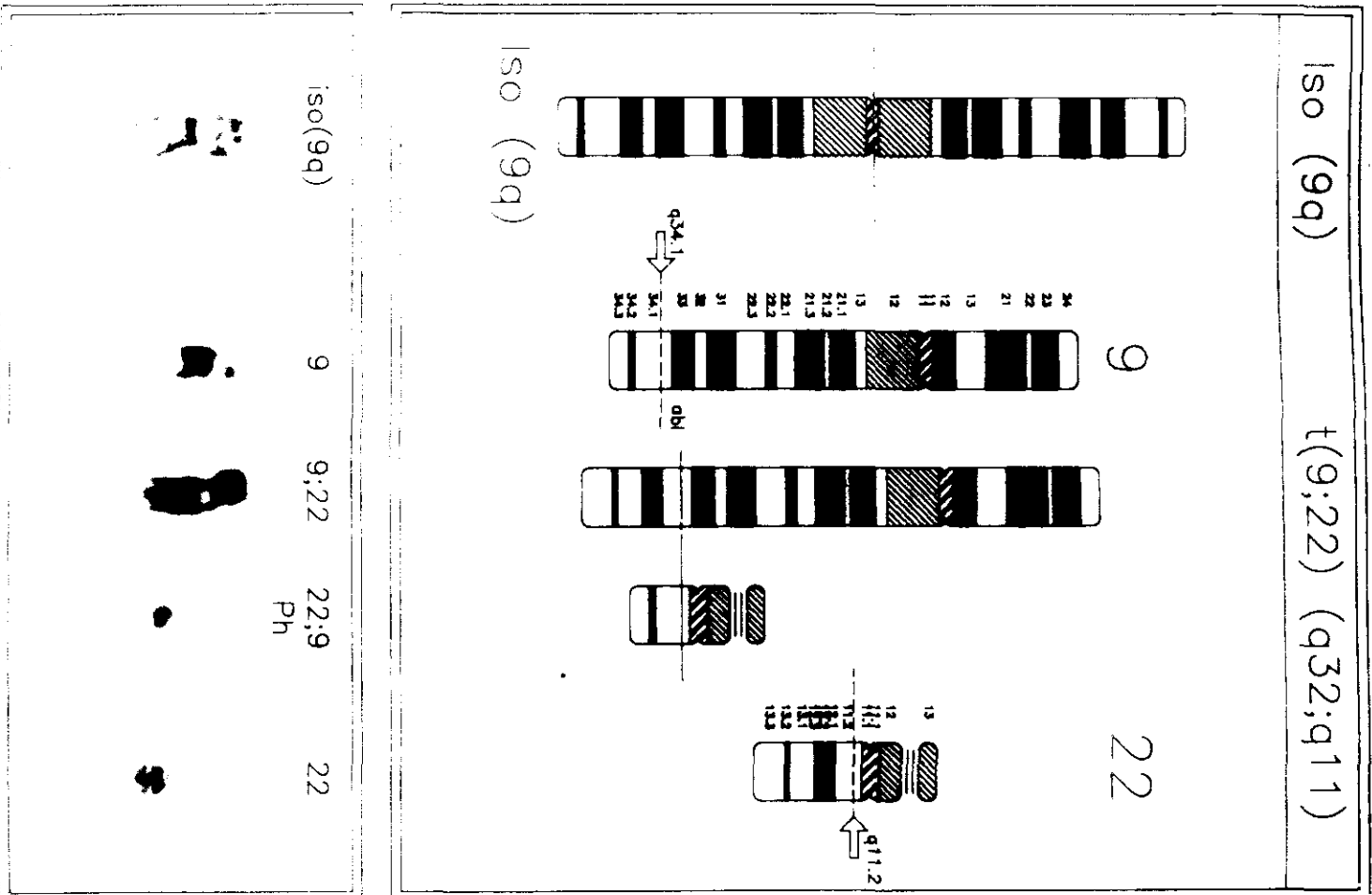


Fig.23- caso n° 23 de nuestra serie mostrando cromosoma Philadelphia por translocación 9;22, asociado a un isocromosoma 9q.

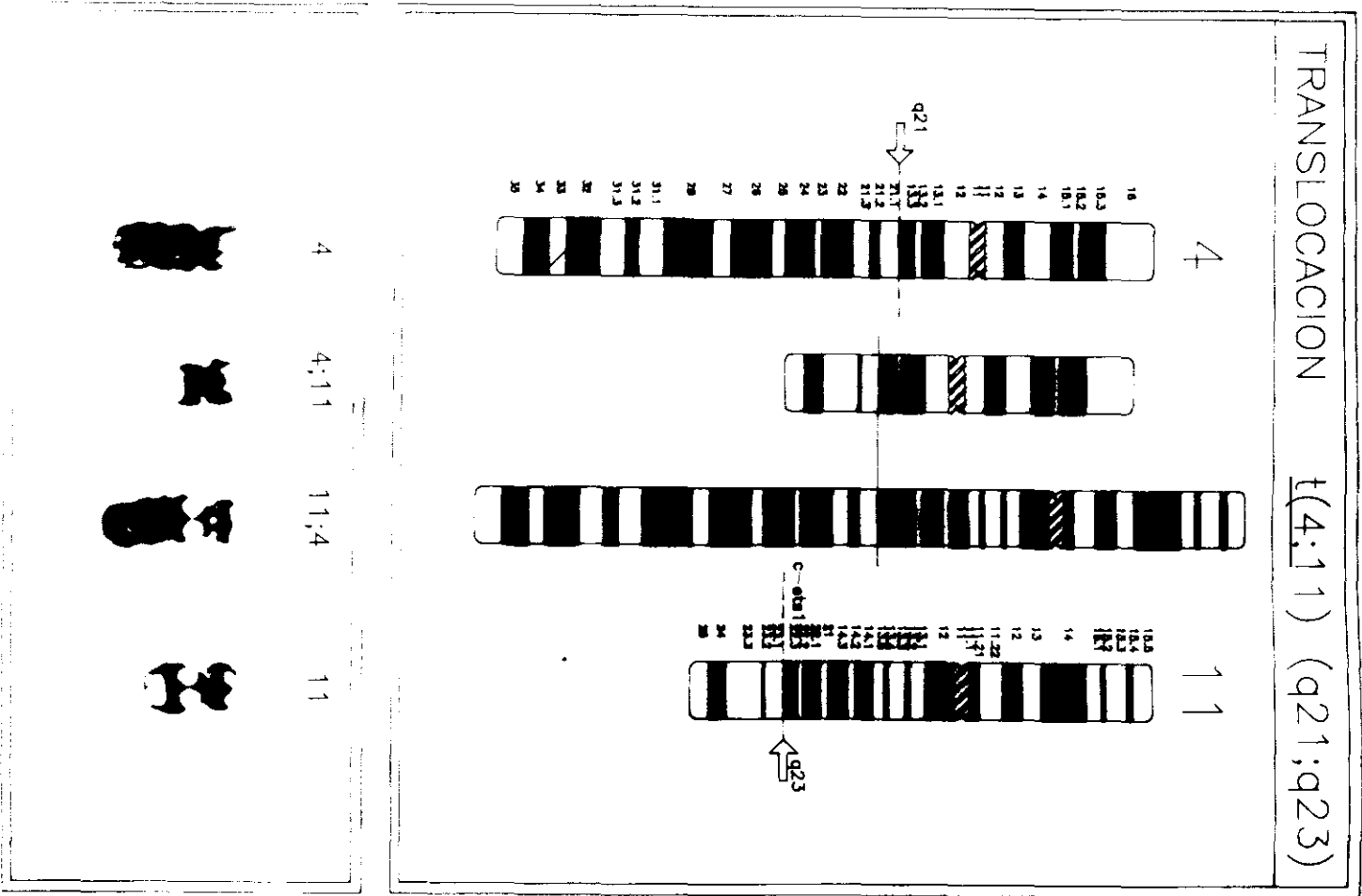


Fig. 24- Esquema y caritipo parcial de la translocación específica (4;11)(q21;q23).



SERVICIO DE GENÉTICA MÉDICA
HOSPITAL "RAMON Y CAJAL"

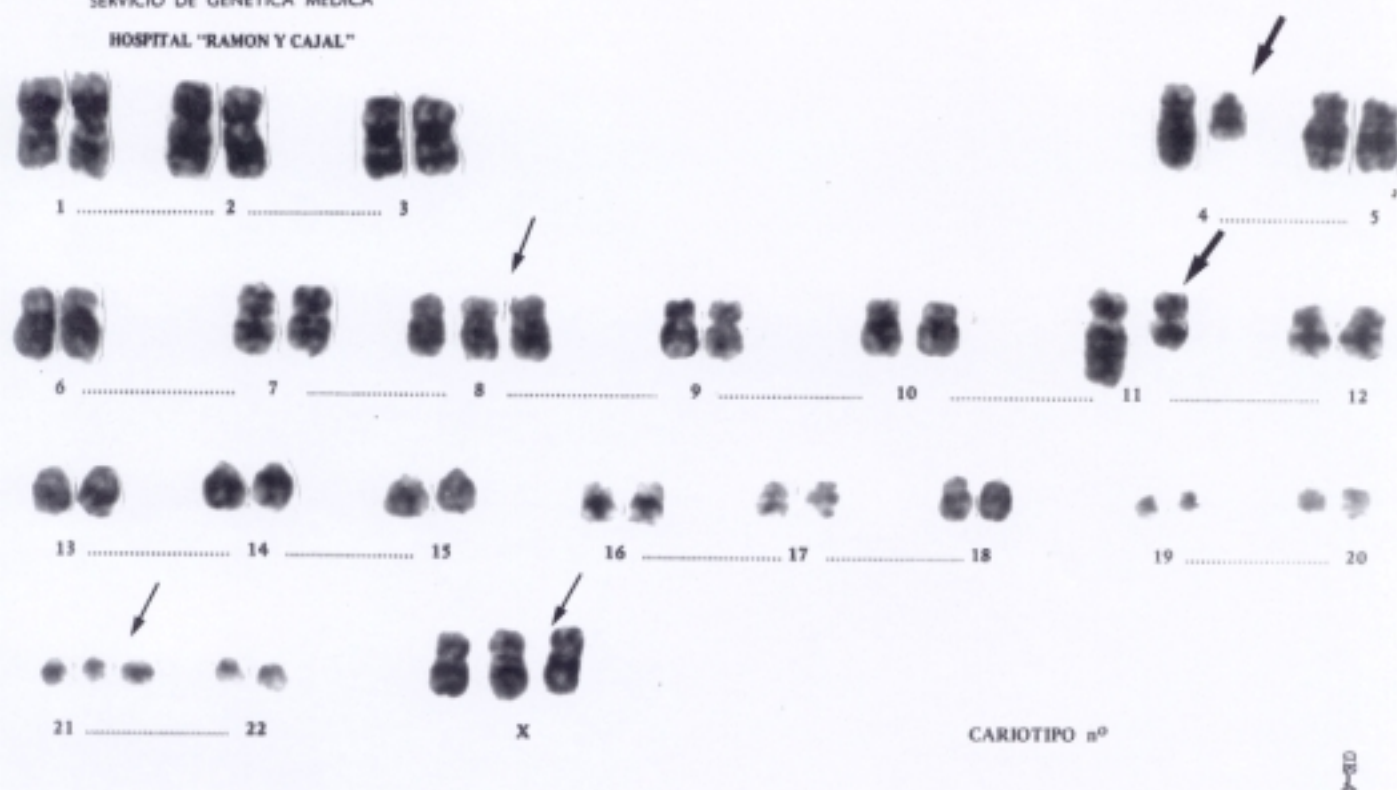


Fig.25- Cariotipo del caso nº 15, una LLA tipo L3. Se observa la translocación específica (4;11)(q21;q23), asociada a una trisomía de los cromosomas 8,21 y X.

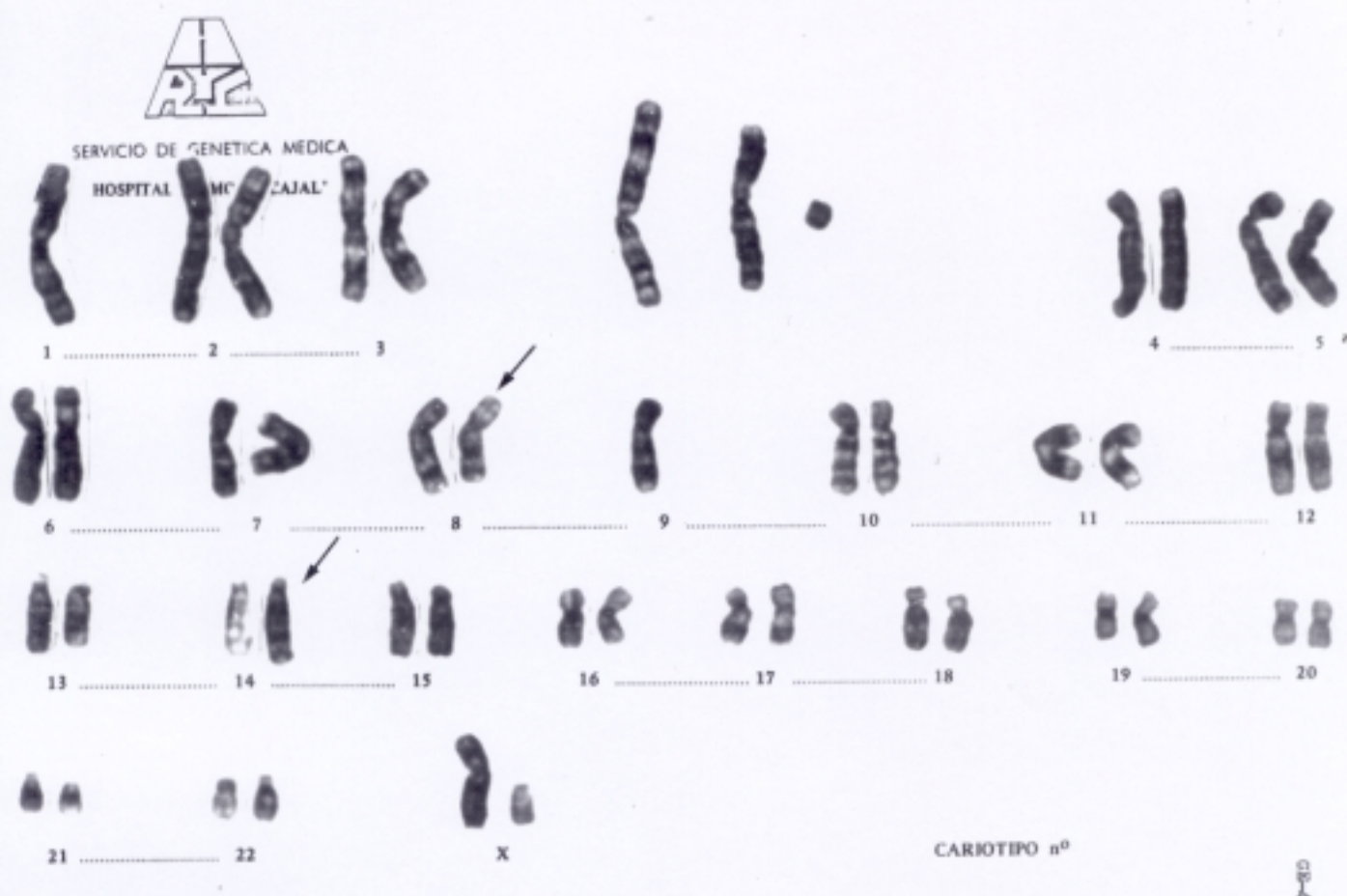


Fig.26- Caritipo mostrando la translocación (8;14)(q24;q32), asociada a anomalías del cromosoma 1.



Fig.27- Detalle del marcador derivado del cromosoma 1 del caso anterior.

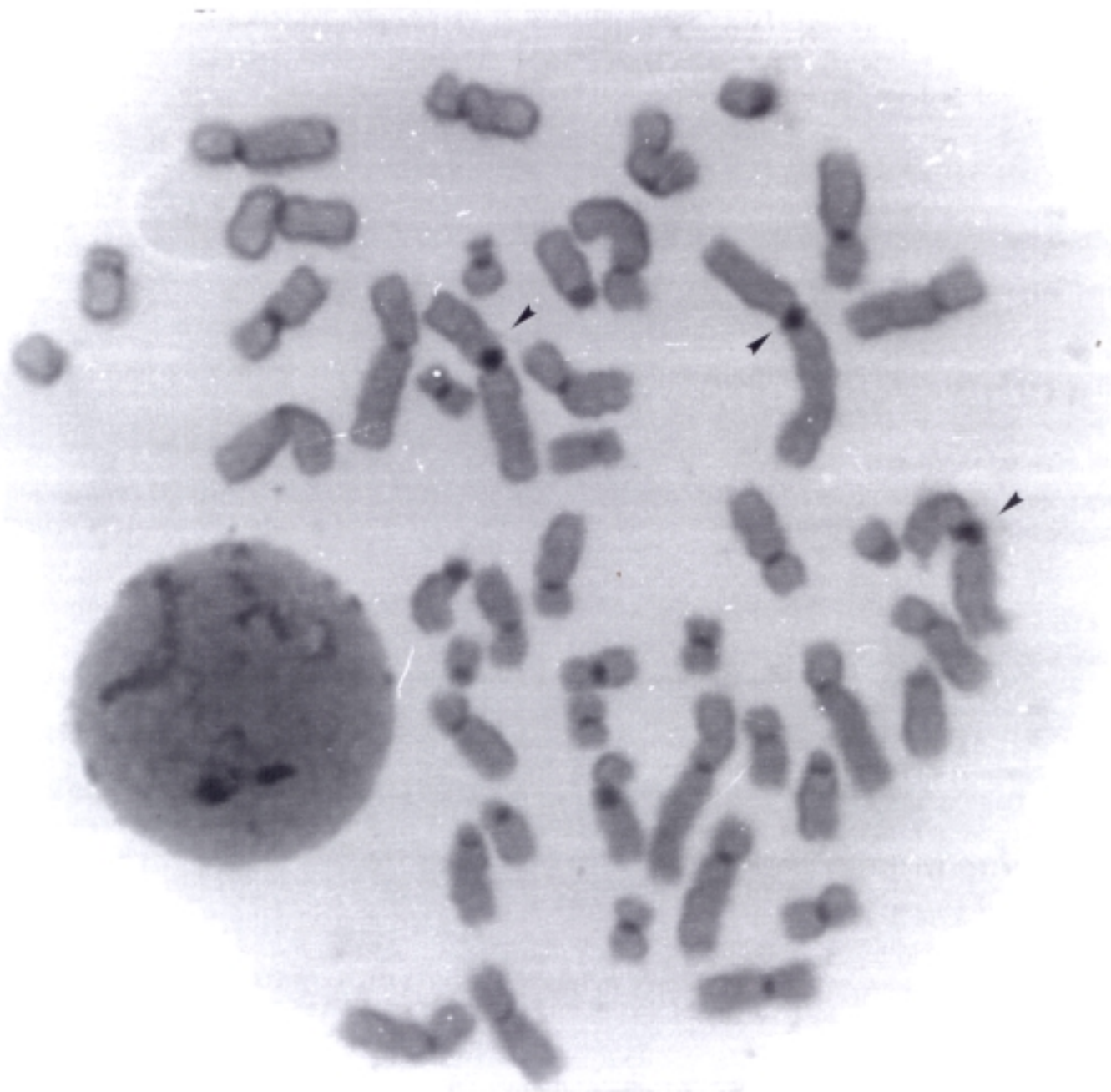


Fig. 28- Marcadores derivados del cromosoma 1 (caso nº 52).
Técnica de centromeros.

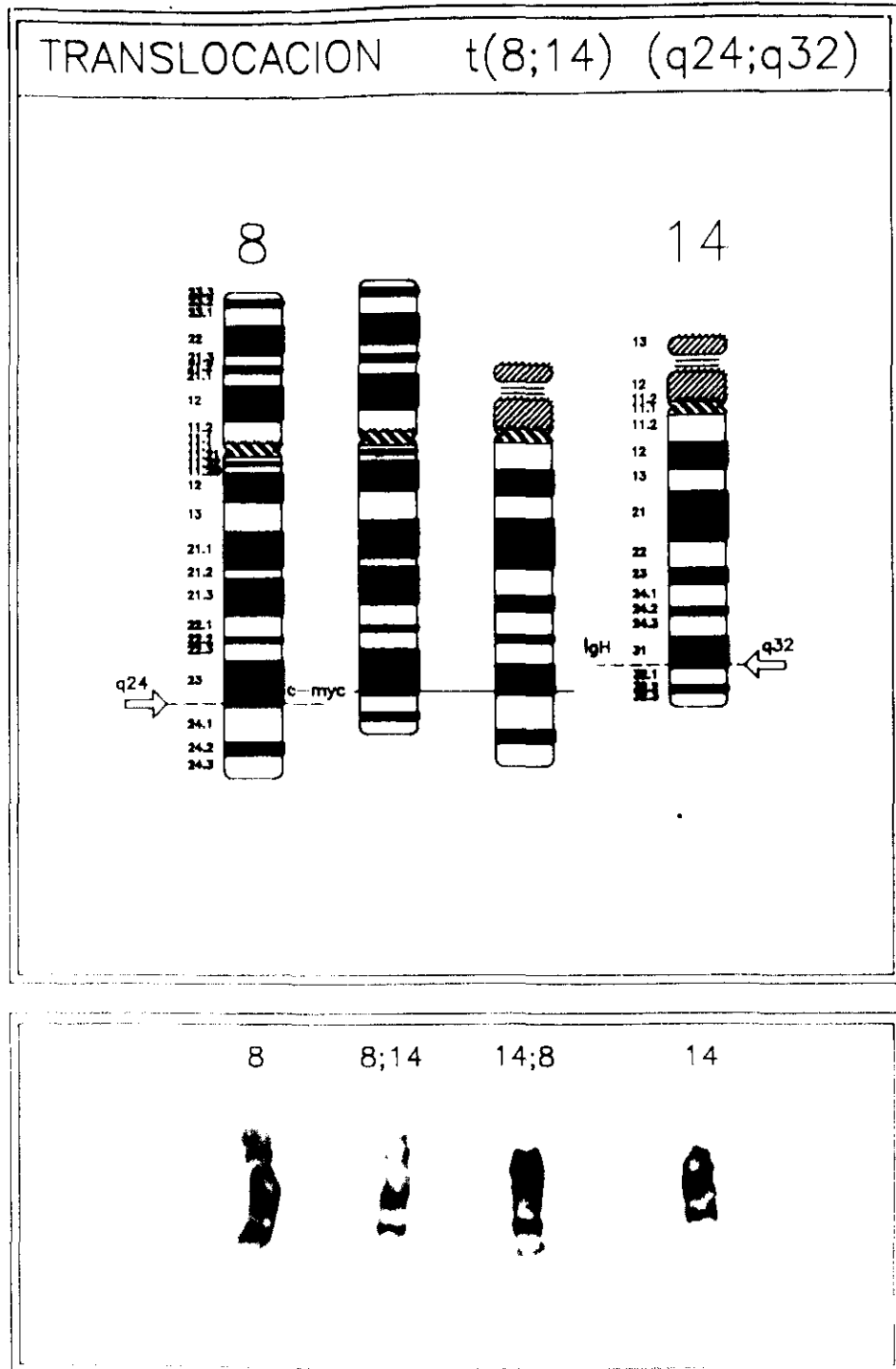


Fig.29- Detalle de la translocación $(8;14)(q24;q32)$ característica de la leucemia/linfoma de Burkitt.

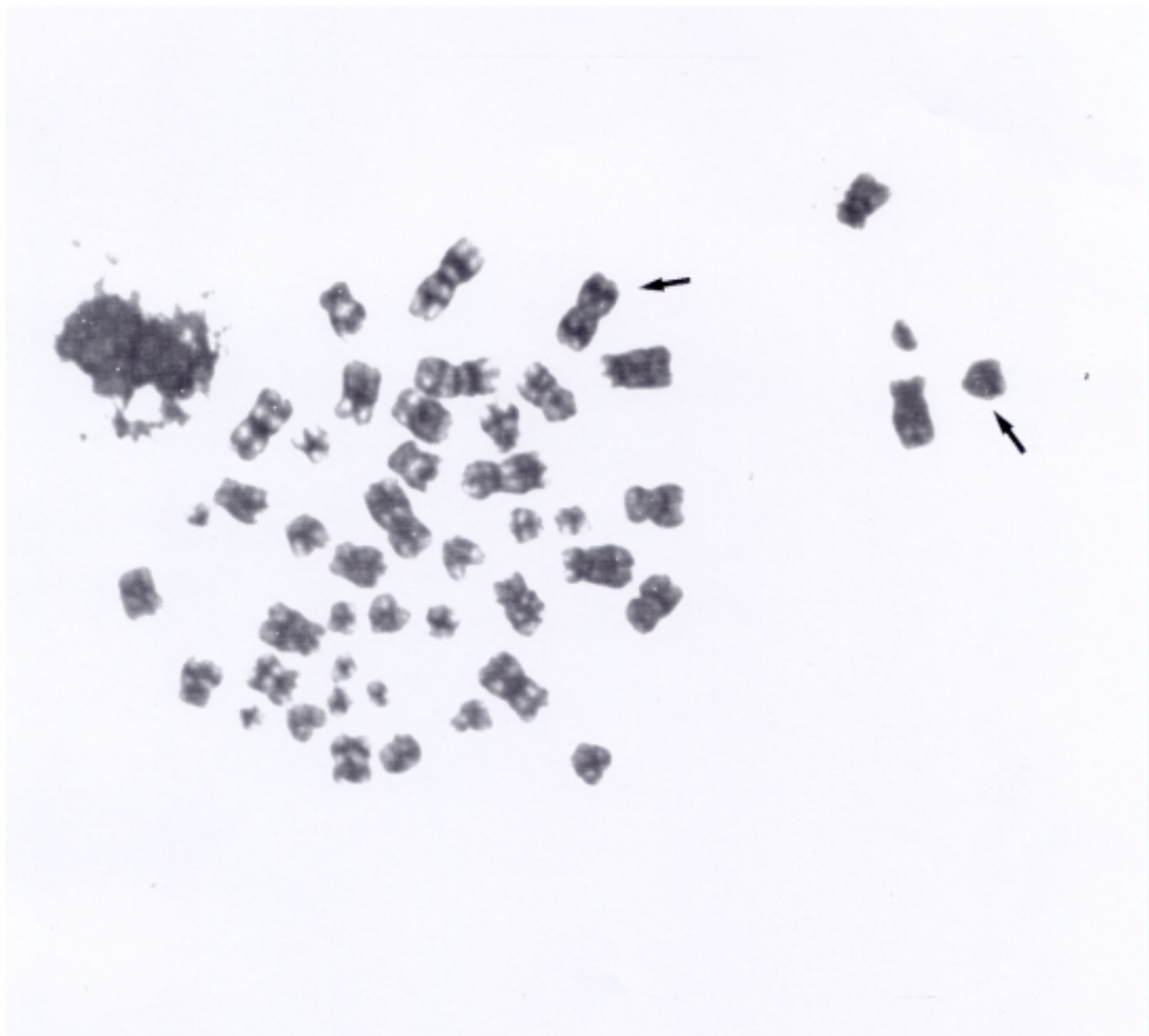


Fig.30- Metafase de médula ósea del caso nº 37. Las flechas indican el cromosoma 13 y la translocación Robertsoniana 13;13.



Fig.31- Cariotipo del caso anterior (nº 37)

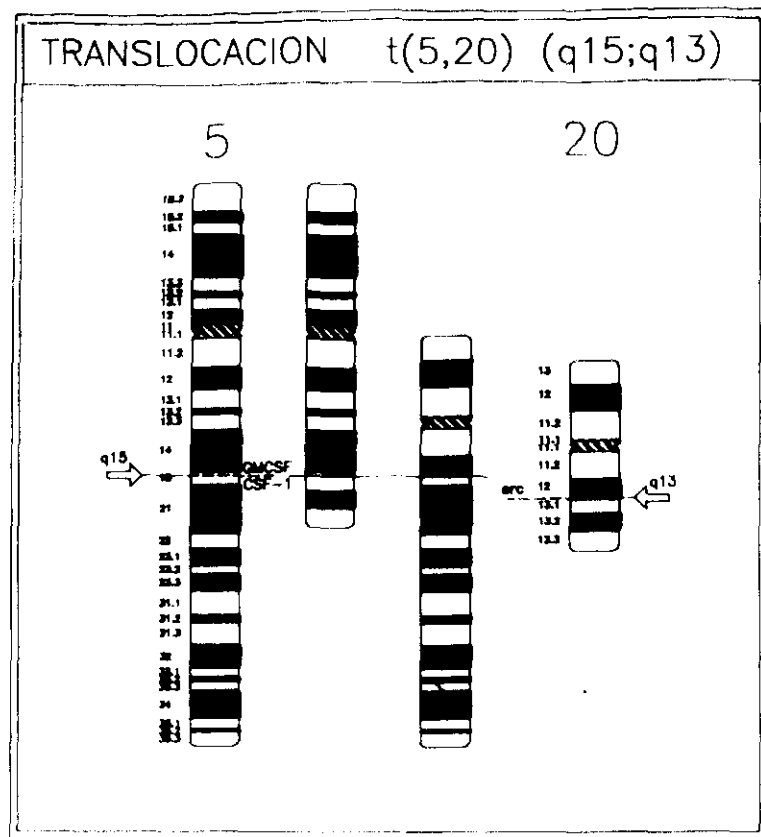


Fig.32- Caritipo de médula ósea del caso nº 27 mostrando la translocación $(5;20)(q15;q13)$. Esquema precisando los puntos de rotura de esta translocación.

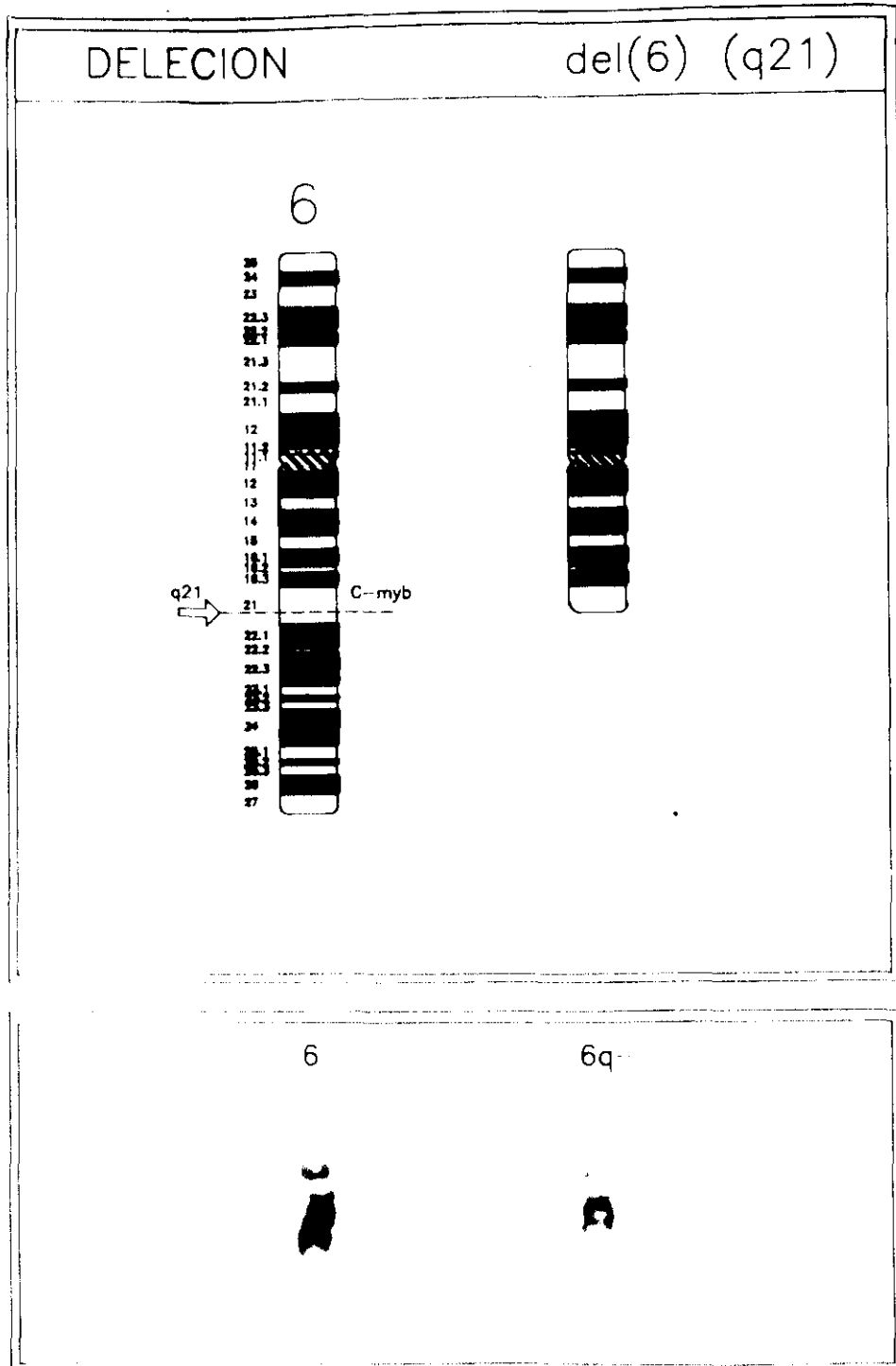


Fig.33- Detalle del caritipo del caso nº 19 (LLA-T) mostrando la deleción de los brazos largos del cromosoma 6.

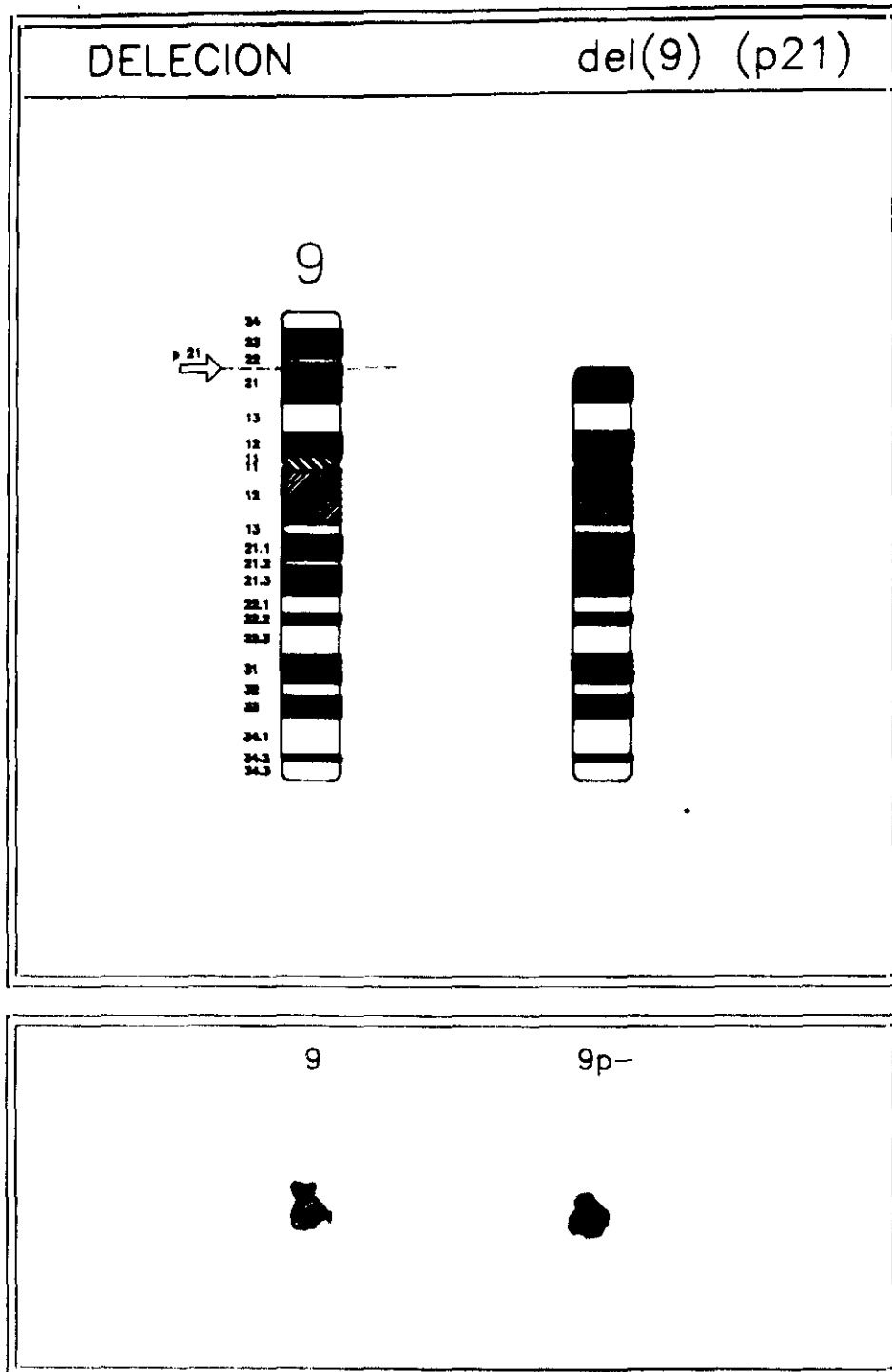


Fig.34- Esquema y caritipo parcial de la deleción de los brazos cortos del cromosoma 9.



SERVICIO DE GENÉTICA MÉDICA

HOSPITAL "RAMÓN Y CAJAL"

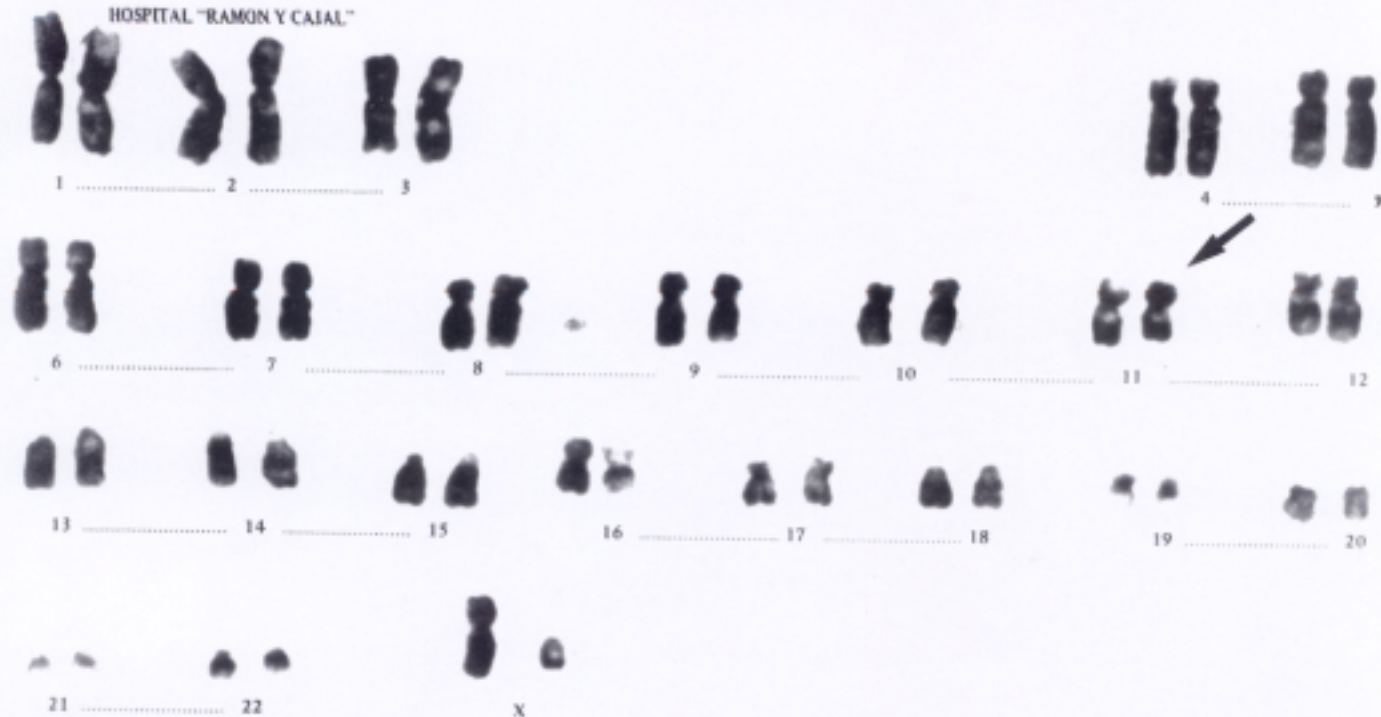


Fig. 35- Cariotipo de médula ósea del caso nº 30 (LLA no T no B, tipo L1) mostrando la delección de los brazos largos del cromosoma 11 a nivel de q23.

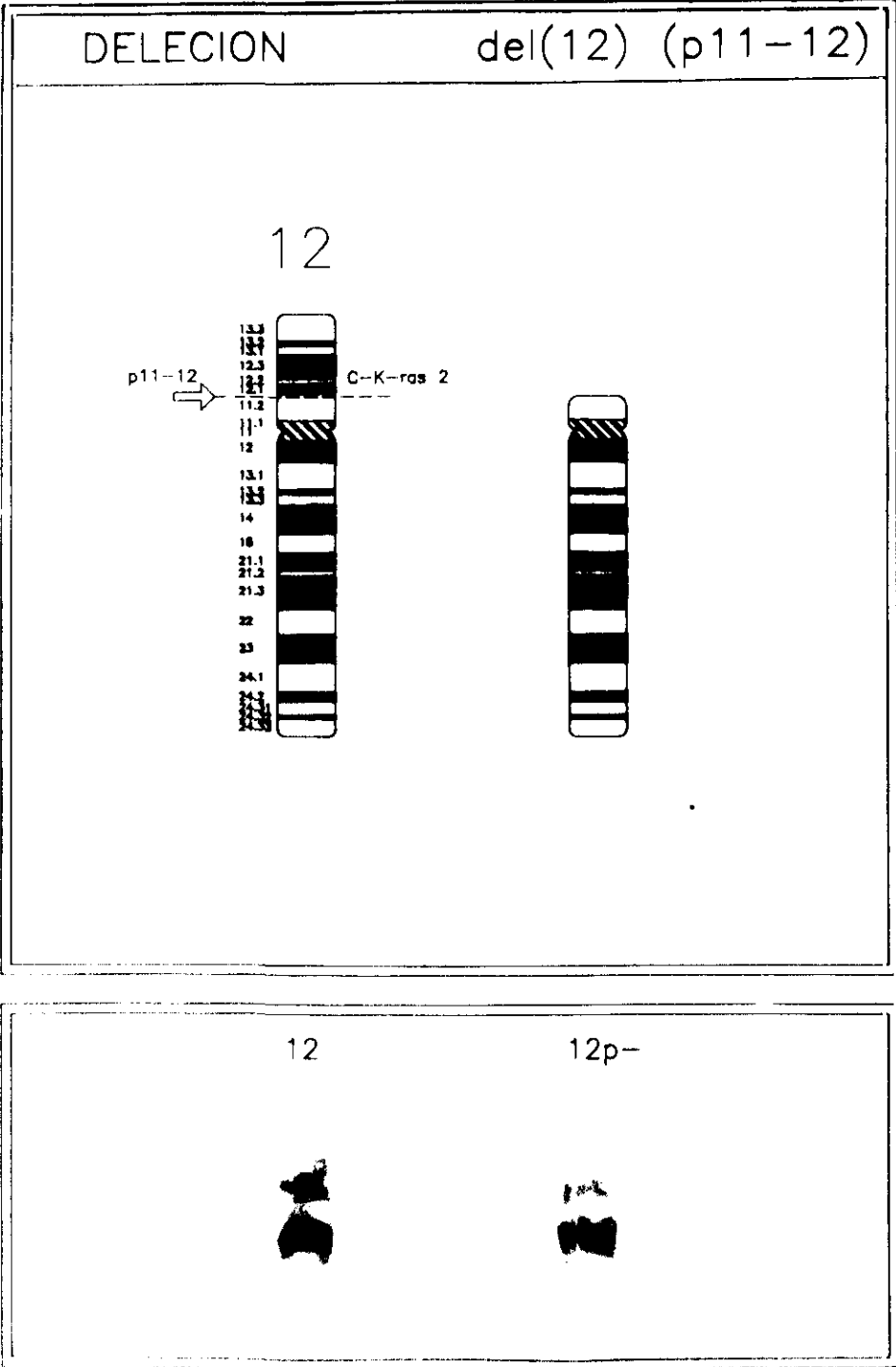


Fig. 36- Detalle de la deleción de los brazos cortos del cromosoma 12 del caso nº 11.

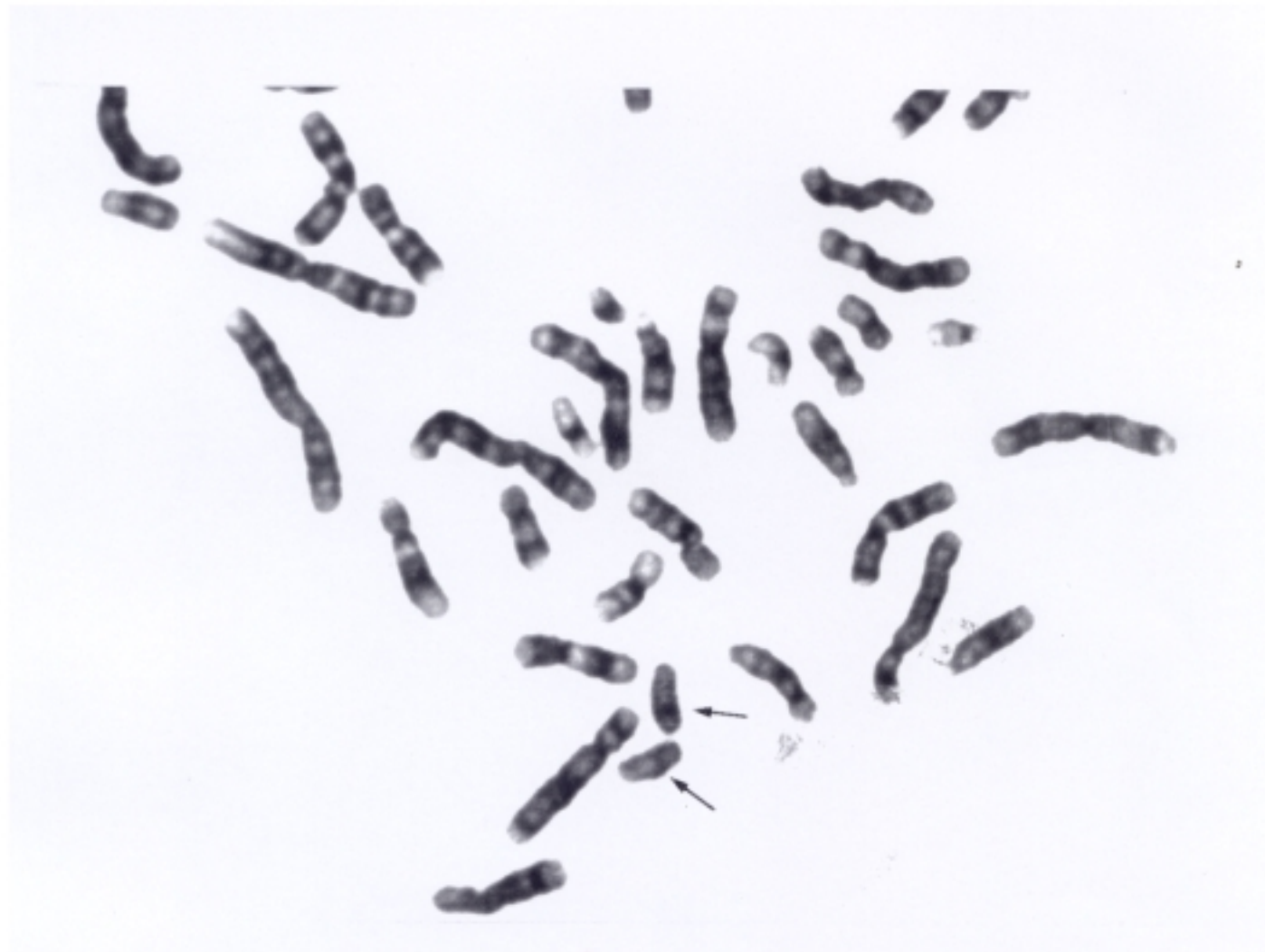


Fig.37- Metafases del caso nº 95 mostrando el doble cromosoma Y por técnica de bandas G.



Fig.38- Metafase del caso anterior con técnica de bandas Q.

V. DISCUSION

De los 107 casos recogidos en nuestro trabajo, encontramos que la distribución por sexos de esta enfermedad mostró un predominio de varones sobre hembras: 66 varones y 41 hembras.

El estudio de la patología cromosómica encontrada se centró en 94 enfermos (58 varones y 36 hembras), en los que se hizo el estudio cromosómico desde el inicio de la enfermedad. El porcentaje de varones y hembras patológicos fué muy similar: 65,5% de los varones y 61,1% de las hembras. El porcentaje total de casos cromosómicamente patológicos fué de un 63,8%, cifra coincidente con la mayoría de las series. En el Tercer Workshop Internacional, encuentran patología en el 66% de los casos.

También fué muy similar la patología encontrada en la serie infantil y en la serie de adultos: en la primera las alteraciones correspondieron a un 62,4% y en la segunda a un 64,8%.

Analizando el tipo de anomalías: numéricas o estructurales, encontramos en nuestra serie un predominio de las anomalía estructurales en 27 casos de los 60 patológicos (45%). Le siguió en frecuencia el cariotipo con anomalías de tipo mixto: 20 casos (33,3%) y en último lugar, se situó el grupo de las numéricas con 13 casos (21,6%). Estas cifras fueron similares a las encontradas en el Tercer Workshop:

Tipo de anomalía	3º Workshop(%)	Nosotros(%)
A. número (nº)	20	21,6
A. estructurales	40	45
A. nº y estructura	40	33,3

Considerando la clasificación de los casos según presentaran solo línea anormal (AA) o con mezcla de línea normal y anormal (AN), los datos variaron de los encontrados en el Workshop:

	Workshop (%)	Nosotros (%)
AA	29,1	51,6
AN	70,8	48,4

Pensamos que estas diferencias pueden ser atribuibles a las técnicas utilizadas; principalmente a las horas de cultivo empleadas en cada laboratorio que pueden favorecer la aparición de una u otra línea celular, como de hecho comentamos en el apartado C,3 de Material y Métodos.

Teniendo en consideración el número cromosómico, se encontró una mayor proporción de casos pseudodiploides, seguidos de los hiperdiploides y en último lugar, los hipodiploides. La misma relación se encontró en el Tercer Workshop:

	Workshop(%)	nosotros(%)
Hiperdiploides	36,8	41,6
Hipodiploides	12,3	11,6
Pseudodiploides	46,6	50,9

El porcentaje de casos patológicos en cada tipo inmunológico varió sensiblemente. En las leucemias agudas de célula B, la patología correspondió a un 78,5% de los casos; en las de células T, a un 50% y en las no T no B, a un 67,3%. En el tercer Workshop todas las leucemias de tipo B fueron patológicas; en el grupo no T no B lo fueron en un 70% y en el de leucemias T, solo se encontró patología en un 39%.

B- PUNTOS DE ROTURA DE LOS CROMOSOMAS

Teniendo en cuenta que los cromosomas se rompen en determinados puntos en el cáncer y que estos puntos son identificables con las bandas, analizamos los 106 puntos de rotura identificables en nuestros casos, que a su vez se limitaron a 41 bandas. Este número de bandas corresponde aproximadamente a un séptimo de las bandas del cariotipo humano standar.

Los cambios cromosómicos no se producen al azar. Este hecho ha sido confirmado por distintos autores (Mitelman y Levan 1981; Yunis 1983; Rowley 1984, Mitelman 1991). En el año 1981 Mitelman y Levan llevaron a cabo una recopilación de 1.871 casos de neoplasia, encontrando que 15 de los 23 pares de cromosomas participaban de forma selectiva en las neoplasias humanas.

En un análisis más profundo, realizado por el propio Mitelman en 1986, este autor recogió en su registro de neoplasias 5.345 enfermos. En los casos en los que había un único cambio cromosómico, analizó si este cambio lo presentaban al menos dos neoplasias del mismo tipo y llegó a reunir, con este criterio, 77 anomalías diferentes. La conclusión más interesante fue que los puntos de rotura de estas alteraciones cromosómicas afectaban solo a 83 bandas, lo que representaba, aproximadamente, la cuarta parte de las que muestra un cariotipo humano analizado con las técnicas habituales de bandas.

En el tercer Workshop la distribución de 333 puntos de rotura no fue al azar. De ellos, 194 fueron confinados a 7 regiones cromosómicas.

Nuestros hallazgos no pueden compararse con los de Mitelman ya que, por una parte, tomamos en consideración

todos los casos y no solo aquellos en los que había una única anomalía, y por otra, nuestro estudio se restringió a un solo tipo de neoplasia.

C-TRANSLOCACIONES ESPECIFICAS

Dentro de las translocaciones consideradas como específicas, encontramos 5 de ellas: la translocación 4;11, 8;14, 9;22, y la 11;14 con dos puntos de rotura diferentes. De estas dos últimas solo encontramos un caso de cada una.

El hecho más destacable en nuestra serie, fué la intensa asociación entre la morfología de los blastos y las translocaciones específicas. Todos los pacientes que portaban una translocación (8;14)(q24;q32) tenían morfología L3. Se obtiene un resultado similar en el tercer Workshop en el que encuentran que todos los pacientes, salvo uno con la translocación 8;14 (tipo L1), tenían morfología L3. Ningún caso con cromosoma Philadelphia ó 6q-, perteneció al grupo de la L3 tanto en nuestra serie como en el Workshop.

1- Cromosoma Philadelphia

El cromosoma Philadelphia fué la anomalía estructural más frecuente en nuestra serie, en la que aparecieron 20 casos con esta alteración. En uno de ellos se observó un doble Philadelphia. La proporción de cromosoma Philadelphia en la serie fué de un 21%, del total de los casos que se estudiaron en el momento inicial del proceso leucémico. Esta cifra representa un 33% de todos los casos con patología cromosómica.

El descubrimiento del cromosoma Philadelphia en las leucemias agudas, tanto de tipo mieloide como linfoide, ha llevado a plantear la relación existente entre las anomalías

cromosómicas y la proliferación de un determinado tipo celular. En los últimos años se ha encontrado que este cromosoma se asocia con frecuencia con la leucemia linfoblástica aguda (20-30% de los casos) y aunque más raramente, también se encuentra en las leucemias agudas no linfoblásticas (2-3% de los casos)(Sandberg 90; Mitelman 91).

El análisis morfológico de los casos de nuestra serie con cromosoma Philadelphia mostró que todos pertenecían a la L1 ó la L2 en una proporción muy similar: 9 L1 y 11 L2.

Se encontró con mayor frecuencia en la serie de adultos (22%) que en la de niños (13%). Estos hechos coinciden con los reflejados en el tercer Workshop, en donde también encuentran que fué mucho más frecuente en adultos que en niños. La razón de adultos a niños fué tres veces mayor; todos fueron no T no B y ninguno se encontró dentro del grupo de la L3. Los porcentajes que encuentran para el cromosoma Philadelphia son del 5,7% en los niños y del 17,0% en los adultos.

En todos nuestros casos, el cromosoma Philadelphia se produjo por la translocación clásica $t(9,22)$, excepto en una L2 del adulto (caso nº 23) en la que el cromosoma 22 se translocó a los brazos largos de un cromosoma 14. En el Workshop, también encontraron una baja proporción de variantes; salvo en 4 casos, todos tenían la translocación (9;22). Las variantes consistieron en 2 translocaciones simples (6;22) y (21;22) y una translocación compleja (3;9;22). En un caso no vieron la translocación.

En 23 de los 45 pacientes, encontraron anomalías adicionales al cromosoma Philadelphia; esta frecuencia es mucho menor que la que presentan los casos con LMC en crisis blástica. En nuestra serie, también queda reflejada la menor proporción de anomalías asociadas que las que se observan en

la leucemia mieloide crónica. Nosotros encontramos anomalías asociadas solo en 6 casos. En un caso (nº 60) algunas de las anomalías asociadas fueron del tipo de las que tienen lugar en la crisis blásticas de la leucemia mieloide crónica: doble Philadelphia y trisomía 8. Las demás alteraciones cromosómicas asociadas al Philadelphia, no son características de la crisis blástica en la leucemia mieloide crónica. El tipo de alteraciones asociadas varió: encontramos translocaciones balanceadas, ganancia y pérdida de diferentes cromosomas, isocromosoma 9q, un anillo, una delección del cromosoma 9 y una inversión del cromosoma 1.

En el tercer Workshop, la anomalía adicional numérica más frecuente, fué la ganancia de un cromosoma Ph o de un cromosoma 8. Encontraron además un anillo del cromosoma 21, 2 translocaciones balanceadas y un caso con ganancia del cromosoma 5. En las alteraciones estructurales el cromosoma que con más frecuencia se alteró fué el cromosoma 7.

En el momento actual y a la vista de nuestros resultados y de los comentados en la literatura, parece claro que no existe un patrón determinado de anomalías adicionales al cromosoma Philadelphia en las leucemias agudas, aunque es de destacar la alteración de los brazos cortos del cromosoma 9 observada en nuestra serie y constatada también por Rieder y Fonatsch (1991). En tres casos de su serie de LLA, encuentran una delección de 9p y en un caso, un isocromosoma 9q similar al nuestro, sugiriendo estos autores que puede ser una alteración secundaria, no al azar, en los casos de LLA, Ph+. A nivel molecular, anomalías del brazo corto del 9 pueden dar lugar a la pérdida de genes que codifican las citokinas, las cuales inhiben la proliferación celular y podrían, también, dar lugar a la delección o al reajuste de un gen supresor.

Como es sabido, el cromosoma Philadelphia se asoció durante varios años con la leucemia mieloide crónica y no es

hasta el año 70, es decir 10 años después de su descubrimiento (Nowell y Hungerford 1960), cuando se hace la primera descripción en la leucemia aguda (Prop y Lizzi 1970).

Se ha especulado mucho sobre el significado del cromosoma Ph en este tipo de leucemias. La pregunta más importante al respecto es, si verdaderamente existe la leucemia aguda Philadelphia positiva o si se trata, más bien, de una manifestación de la leucemia mieloide crónica. Ya en 1977 Gibs y cols. se plantean esta interrogante. Estudian estos autores dos casos de LLA Ph+, encontrando en ellos un comportamiento diferente. En un caso, al remitir el cuadro agudo, se desarrolló una LMC Ph+, sin embargo en el otro, al entrar en remisión desapareció el cromosoma Philadelphia, volviéndose a evidenciar en la recaída. Estos distintos comportamientos llevan a pensar, que puede haber diferentes entidades dentro de este grupo de leucemias agudas Philadelphia positivas. Varios autores se plantean entonces, si se trata verdaderamente de distintas entidades o todos los casos Philadelphia positivos corresponden a una misma enfermedad, con manifestaciones diferentes (Catowsky 1979). Los estudios moleculares llevados a cabo en las leucemias agudas Ph positivas, indican que en algunos casos la alteración a ese nivel es similar a la que tiene lugar en la leucemia mieloide crónica, variando en otros.

Por lo que a la citogenética se refiere, el cromosoma Philadelphia tiene efectivamente un comportamiento diferente en las leucemias agudas y en la leucemia mieloide crónica. Estas diferencias son las siguientes:

- En las leucemias agudas se presenta generalmente en mosaico con línea celular normal.
- Cuando la enfermedad entra en remisión desaparece el cromosoma Philadelphia.

- Las anomalías cromosómicas adicionales son diferentes que las encontradas en la fase blástica de la leucemia mieloide crónica.

- Son más frecuentes las variantes del cromosoma Philadelphia, sobre todo en la leucemia aguda no linfoblástica.

Abe y cols. en el año 1985, aportan datos sobre posibles diferencias entre las leucemias crónicas y leucemias agudas Philadelphia positivas. Estudian citogenéticamente colonias eritroides, derivadas de una leucemia linfoblástica aguda Philadelphia positiva y encuentran que estas células no estaban implicadas en la proliferación anormal, mientras que en la LMC si se ha comprobado la participación de las células de la serie eritroide (Sandberg 1980).

En nuestro estudio es de resaltar, la formación del cromosoma Philadelphia en todos los casos salvo uno por translocación 9;22. En 11 casos se puso de manifiesto la existencia de línea celular normal y por último, es de destacar el tipo de anomalías adicionales, tan dispares, de las encontradas en la leucemia mieloide crónica.

Este cromosoma Ph, indistinguible por citogenética del que se presenta en la LMC, puede ser diferente a nivel molecular. En el 50% de los casos, el punto de rotura en el cromosoma 22 de la LLA, ocurre en la clásica región "bcr" de 5,8 Kb y fuera de este segmento, en el resto. La proteína que aparece en estos últimos casos, P190, es diferente de la P210 de la LMC.

Variantes del cromosoma Philadelphia

Nosotros solo encontramos un caso con una variante del cromosoma Philadelphia (Ferro y San Román 1986); esto representa una proporción en nuestra serie de un 5%. Esta proporción es mucho menor que la encontrada por Rowley en una revisión efectuada en 1981. Esta autora encuentra en la leucemia aguda no linfoblástica un 33% de variantes, en la leucemia linfoblástica aguda un 13% y en la LMC un 8%.

La variante encontrada por nosotros se trataba de una translocación 14;22. Han sido descritas muchas variantes del cromosoma Philadelphia (Sandberg AA 1980), no encontrándose una relación entre la variante cromosómica y el tipo de leucemia que lo porta (leucemia aguda mieloide, leucemia aguda linfoide, leucemia mieloide crónica con diferentes tipos de crisis blástica). En nuestro caso, se puede pensar que existe esta relación, al formarse con esta translocación uno de los marcadores más importantes de la serie linfoide, el 14q+. En la literatura hemos encontrado otros dos casos en los que esta translocación tuvo lugar (Ayraud N y cols.1975). Los dos casos correspondieron, al igual que el nuestro, a una leucemia linfoide aguda.

2-Translocación 4;11

En nuestra serie de leucemia linfoblástica aguda, encontramos esta translocación en 4 casos; de ellos 2 fueron niños de corta edad (2 años). Esta asociación de la translocación 4;11 con la leucemia aguda linfoblástica en niños de corta edad ha sido puesta de relieve por otros autores (Arthur DC y cols. 1982). Se encuentra preferentemente en hembras y, sobre todo, es la anomalía más frecuente en la leucemia congénita. La distribución por sexos

en nuestros casos no siguió la norma general, correspondiendo 2 casos a varones y 2 a hembras.

La translocación 4;11 (q21;q23), se considera uno de los marcadores cromosómicos específicos de la leucemia linfoblástica aguda (clasificación MIC,1986), encontrándose en los casos que la portan ciertas características comunes. Generalmente es de fenotipo inmunológico indiferenciado. Hay 3 casos excepcionales, entre los que se encuentra uno de los incluidos en esta serie (Ferro y San Román. 1986). Se trata del caso nº 15, una hembra de 48 años de edad, diagnosticada de leucemia linfoblástica aguda con células blásticas tipo Burkitt e inmunoglobulinas de superficie positivas. Leroux y cols.(1988), refieren otro caso excepcional : una translocación 4;11 (q21;q23) en una enferma con un linfoma no Hodgkin. Ambas pacientes eran hembras de mediana edad.

Raynaud y cols. en 1988, encuentran la translocación 4;11 en una leucemia cuyos blastos presentaban una morfología tipo Burkitt y que inmunológicamente era una LLA pre-B. La enferma de estos autores era también una mujer y tuvo una mala evolución; fué tratada con un protocolo de alto riesgo, falleciendo a las 3 semanas del inicio de la enfermedad. El caso de estos autores y el nuestro, tienen además en común, una Pas positividad que no es lo habitual en la LLA tipo L3 de la clasificación de la FAB.

Kokova y cols. 1985, revisan 36 casos de translocación 4;11, encontrando que las características de este grupo son: edad joven, morfología L1 y L2, inmunología no T no B, pobre pronóstico y tendencia a desarrollar comportamiento mieloide. Una revisión posterior de De Braekeleer y Lin 1986, de 43 casos, sugieren que esta translocación se asocia con un grupo heterogéneo de leucemias, incluyendo la leucemia aguda no diferenciada y la LLA común. Se llega a la conclusión de que en estos casos, la célula alterada tiene que ser una

célula pluripotencial, con posibilidad de ambas diferenciaciones : mieloide y linfoide.

En el MIC comentan que se encuentra en 3 tipos de leucemia: LLA, tipo L1 y L2; leucemia aguda mielomonocítica y en las llamadas leucemias agudas de fenotipo mixto. En nuestra serie los otros casos correspondieron a dos L1 y una L3.

En el tercer Workshop, 17 casos no tenían otra anomalía añadida, 1 tenía una delección del 17 y otro, una hiperdiploidía. En 3 de nuestros casos existieron anomalías asociadas, no coincidentes. Uno fué hiperdiploide y en los otros dos había anomalías de tipo estructural. La proporción de la translocación varió desde un 18% a un 100%.

3-Translocación 8:14

De los 5 casos con translocación 8;14, 4 fueron varones y 1 hembra. De ellos, 4 fueron adultos y 1, un niño. Todos estaban por debajo de los 50 años, desde los 4 a los 42, con una media de 21.

En el tercer Workshop, también encuentran un mayor número de varones que de hembras con esta translocación y más adultos que niños; clasificando los casos dentro de la L3 y con marcadores B. Todos nuestros casos correspondieron a la L3 y tenían marcadores de células B. Los puntos de rotura fueron todos idénticos, q24 en el cromosoma 8 y q32 en el cromosoma 14.

Ocho de los casos del Workshop no tenían anomalías adicionales y siete las presentaban. De los 7 casos, 5 fueron pseudodiploides y 2 fueron hiperdiploides. Nosotros encontramos anomalías adicionales en 4 de los 5 casos; de ellos, las anomalías adicionales fueron muy similares en 3.

Los 3 tenían duplicación de 1q, alteración muy infrecuente en otros tipos de leucemia. Además de duplicación de 1q, encontramos marcadores y deleciones. En un caso las anomalías fueron más sencillas, solo presentaba además de la translocación 8;14, una trisomía 7. La translocación, se presentó en 4 casos como única línea celular y uno de ellos conservaba línea celular normal, aunque en muy baja proporción (4%).

La alteración del cromosoma 1, además de otras alteraciones hematológicas, ha sido descrita por algunos autores en los procesos linfoproliferativos (Anglani F. y cols 1981; Slavutsky Y. y cols. 1981; Panani A. y cols. 1984).

El significado de esta alteración, encontrada por nosotros en este tipo de leucemia (L3) y no en ningún otro tipo morfológico, hace pensar que tiene que estar íntimamente unida al desarrollo tumoral y condicionada por la translocación primaria, la translocación (8;14)(q24;q32).

4- Translocaciones 11;14

La translocación 11;14 (p13;q11) se ha encontrado en procesos linfoproliferativos T y la morfología L1 o L2. En 14q11 se ha localizado el locus de la cadena alpha del receptor de células T (TCR), encontrando algunos autores (Lewis 1985, Erickson 1985) que el punto de rotura en 14q11 interrumpe el locus del receptor entre las regiones V y C, dan lugar a la reunión de las secuencias J y C con los brazos cortos del cromosoma 11. Sin embargo hay casos descritos en los que participan reajustes de 11q y el fenotipo inmunológico es variable (Dubé y Greenberg 1986).

En nuestro caso (nº 55) se trataba de una niña que fué diagnosticada de L2 no T no B. En el cariotipo había anomalías asociadas y al igual que Dubé y Greenberg pensamos que para conocer una relación exacta entre este punto de rotura (14p11) y el fenotipo inmunológico es necesario un mayor conocimiento a nivel molecular.

En cuanto a la translocación 11;14 (q23;q32) la encontramos también en la serie infantil, y el cariotipo fué al igual que el anterior de tipo complejo. En este niño no se pudo definir el fenotipo inmunológico y morfológicamente la leucemia correspondió al tipo L2.

D-TRANSLOCACIONES ENTRE CROMOSOMAS HOMOLOGOS

Encontramos una translocación entre cromosomas homólogos de tipo Robertsoniano (2 cromosomas del grupo D); esta translocación, en nuestro caso, fué de carácter adquirido y produjo en las células leucémicas una trisomía 13.

Este caso (nº 37 de nuestra serie) tenía como única anomalía, tanto en el momento inicial de la enfermedad como en estudios posteriores, una translocación robertsoniana o isocromosoma 13;13.

Una translocación robertsoniana adquirida es morfológicamente indistinguible de un isocromosoma y ambas interpretaciones son posibles, en este caso, al existir un cromosoma 13 normal, no variando las consecuencias a nivel génico (trisomía 13).

Las translocaciones robertsonianas son unas anomalías estructurales que implican la reunión de brazos enteros entre cromosomas acrocéntricos. Pueden participar, por tanto en ellos, los cromosomas 13, 14, 15, 21 y 22. Los centrómeros pueden romperse por distinto lugar, originando cromosomas monocéntricos o dicéntricos.

Este tema ha sido revisado por Hecht y cols. recientemente. Comentan los autores que siendo uno de los cambios más comunes entre las anomalías constitucionales, aparecen con poca frecuencia entre las anomalías adquiridas en el cáncer. Así de una muestra de 30 translocaciones robertsonianas que reúnen en enfermos con neoplasia, solo 3 eran adquiridas. La frecuencia de esta anomalía es de 1 por 1.100 recién nacidos y de 1 por 10.000 en el cáncer.

La tasa de mutación para los reajustes robertsonianos, es la tasa más alta de los reajustes cromosómicos en el hombre. Otro hecho curioso que tiene lugar en estas translocaciones, es que no son inducidas por agentes químicos o ionizantes. La más frecuente es la translocación 13q;14q (Hecht y cols. 1988). Quizás la baja presencia de estas translocaciones en la célula neoplásica, siendo una de las más frecuentes constitucionales, sea porque las translocaciones robertsonianas -por si solas- no confieren a la célula mutada una ventaja selectiva y solo las observamos cuando se han producido otros mecanismos oncogénicos.

Han sido publicados unos 30 enfermos con translocación robertsoniana en el cáncer (Morgan R y cols 1987). 27 de ellos, eran de origen constitucional. En otros 3, las translocaciones eran adquiridas; consistían en 2 translocaciones 13q;15q y una translocación 13q;14q. Un caso era una leucemia prolinfocítica; otro caso era una LLA en una enferma con ataxia-telangiectasia y otro fué una LANL. En los

3 casos no se presentó como única anomalía sino que fueron complejos. Los autores proponen que el mecanismo de las translocaciones Robertsonianas, no es el común para otras translocaciones en las que se encuentra como base una rotura. Piensan que se pueden producir más bien por mecanismos de recombinación, por tener cerca del centrómero regiones homólogas.

Otro caso de translocación robertsoniana adquirida, ha sido publicado por Fan Y-S. y cols 1988. La translocación tuvo lugar entre los 2 cromosomas del par 14 y el diagnóstico fué de síndrome mielodisplásico, apareciendo a continuación de un tratamiento de mieloma múltiple. El enfermo tenía en su cariotipo de médula ósea, otras anomalías asociadas de tipo complejo .

El trabajo más reciente en este tema es el de Horsman y Kalousek (1990). Estos autores describen 3 enfermos, con translocaciones robertsonianas adquiridas en el cáncer y que daban lugar a trisomías o tetrasomías. Las translocaciones que refieren son diferentes de la encontrada por nosotros en dos aspectos fundamentales: por una parte, estas translocaciones robertsonianas, en dos pacientes, fueron adquiridas a lo largo de la enfermedad, es decir, se presentaron como un fenómeno de evolución clonal; por otra, en el tercer paciente se encontró en el estudio inicial, pero asociada a una de las translocaciones específicas de la leucemia aguda no linfoblástica: la translocación 15;17. Ello hace pensar que también en este caso, se puede tratar de un fenómeno secundario.

Nuestro caso es el único en la literatura, en el que una translocación de este tipo, dando lugar a una trisomía, se encuentra como anomalía única e inicial. Esto nos hace pensar que la duplicación de la información genética que

produce, puede estar en estrecha relación con el desarrollo tumoral (Ferro MT. y San Román C. 1991).

E-OTRAS TRANSLOCACIONES

Aparte de las translocaciones ya comentadas encontramos otras 9. Ninguna de ellas se produjo como única anomalía, no pudiendo por ello conocerse si se relacionan con el inicio de la enfermedad o, por el contrario, se han producido durante el proceso de evolución de la célula tumoral.

Una de ellas tiene unas características especiales: la translocación 5;20 encontrada en el paciente nº 27. Se trata de un enfermo de 52 años de edad, en el que se hizo el diagnóstico de LAL no T no B. Este enfermo, presentaba la translocación 5;20 tanto en las recaídas leucémicas como en los momentos libres de enfermedad. En las recaídas, se observaba además una línea celular independiente de la que presentaba la translocación, en la que había cromosoma Philadelphia. Existía también una línea celular normal. Su cariotipo, mostró la peculiaridad de que al entrar en remisión desaparecía el cromosoma Philadelphia, persistiendo la translocación 5;20. Se puede pensar que la translocación 5;20 era constitucional sin relación con su proceso leucémico. Sin embargo no la encontramos en repetidos estudios en sangre periférica, lo que nos hace descartar esta hipótesis.

Es posible que la leucemia del enfermo, esté en relación únicamente con su translocación 9;22. En cuanto a la translocación 5;20, constituye un clon anormal sin relación en el momento del descubrimiento, con patología hematológica.

Esta translocación ha sido encontrada también por Stelmach y Nowell (1987). Estos autores refieren 2 casos de

síndromes mielodisplásicos, ambos con una translocación 5;20, con puntos de rotura en q15 y q13 respectivamente, igual que en la nuestra.

La leucemia de nuestro enfermo pudo asentar sobre un cuadro mielodisplásico previo, confirmando a su proceso un mayor grado de malignización la adquisición del cromosoma Philadelphia.

En este enfermo, pudieron ocurrir dos alteraciones a nivel de sus genes: la yuxtaposición de 5q, conteniendo los genes GMCSF y CSF-1, con el oncogén src mapeado en 20q13 y, por otra parte, el reajuste bcr-cabl.

La descripción por parte de dos laboratorios diferentes de una misma anomalía, en este caso el laboratorio de Stelmach y el nuestro, hace que esta se pueda considerar como específica del cáncer.

F- OTRAS ANOMALIAS ESTRUCTURALES RELACIONADAS CON LA LLA

1- 14q+

Se encontró un 14q+ en 11 casos. De ellos 5 correspondieron a la translocación 8;14, 1 a la translocación 14;22 ya comentada y 5 tuvieron un origen variable. Estos casos representan un 17% de los patológicos. Es de destacar que los cinco casos en los que el 14q+ fué originado por la translocación 8;14 correspondieron todos a la L3, perteneciendo los demás, morfológicamente, a L2. Un caso tenía marcadores T.

En el Workshop encuentran un 14q+ en 15 casos. 56% fueron de células nulas y 44% de células B. El 14q+ se produjo por una translocación balanceada en 6 casos, con

translocación 11;14 (q23,q32) 3 casos. Encuentran una asociación frecuente de 14q+ con delección del cromosoma 4. Nosotros no encontramos esta asociación en ningún caso y sí, la ya mencionada, de la translocación 8;14 con la duplicación de 1q.

2- Anomalías de 9p

La alteración de los brazos cortos del cromosoma 9 la encontramos en 4 casos, los puntos de rotura variaron: 9p cen, 9p13, 9p22 y 9p24.

Tres casos fueron L1 y uno L2, pero lo que llama la atención, es que los 4 casos se aparecieron en la leucemia infantil. El caso con punto de rotura en 9p22 (caso nº2) correspondía a una leucemia tipo T, lo que coincide con los datos existentes en la literatura. Es un hecho hoy en día sin explicación, la presencia de determinadas anomalías con mayor frecuencia en los niños que en los adultos o viceversa.

Se ha considerado que la LLA de los niños con anomalías de 9p, especialmente en las bandas p21-22, forman un subgrupo especial. Lai y cols. (1988), revisan 128 casos de LLA entre adultos y niños encontrando 4 de ellos que tenían anomalías de 9p.

En 1983 Kowalczyk y Sandberg, refieren 7 casos de niños con delección parcial del brazo corto del cromosoma 9, entre las bandas p21-22 o pérdida total del cromosoma. Tenían unas características especiales y la mayoría de las leucemias eran de origen en las células T. Existen trabajos a favor y en contra de esta asociación. Apoyándola estaría el trabajo de Chilcote y cols. (1985) y en contra el de Carrol y cols. (1987).

No se conoce si el 9p es un defecto primario ó secundario. A favor de que esté involucrado en el desarrollo de la leucemia, se encuentra el que forma parte de una de las translocaciones específicas de la LANL tipo M5, de la clasificación de la FAB: la translocación 9;11 y además también lo apoya, el que en esta banda aparece uno de los puntos frágiles del genoma humano (Hecht F., Hecht BK 1986). También el enzima metiltioadenosina fosforilasa, que participa en el metabolismo de las purinas en los linfocitos proliferantes, se ha localizado en los brazos cortos del cromosoma 9 (Carrera y cols. 1984).

Alteraciones de 9p22, han aparecido así mismo en leucemias agudas linfoblásticas de células B (Takeda T. y cols. 1988), pudiendo indicar que esta anomalía no esta relacionada con un inmunofenotipo determinado.

La mayoría de los casos con alteración a nivel de 9p21-p22, se han clasificado de LLA o leucemia aguda monocítica (Rowley 1984). Parece que cuando hay translocación, se diferencia más la célula como monocítica y, cuando hay deleción, como LLA. En la clasificación MIC se refiere que aparece sobre todo con los fenotipos morfológicos L1,L2 y el inmunológico T.

3- 6q-

Solo encontramos un caso con deleción de 6q en la banda q21. Se trataba del caso nº 19 de nuestra serie, una leucemia aguda linfoblástica en un varón adulto, de morfología L2 y fenotipo T. En el Workshop la encuentran más en niños que en adultos.

En la MIC comentan que las bandas varían de 6q15 a 6q21. Se encuentra más en L1 o L2, aunque también se ha visto en otros tipos.

4- 11q23

El punto 11q23 se ha encontrado alterado en 2 de las translocaciones específicas: la translocación 4;11 y la translocación 11;14. Como única anomalía lo vimos en un caso de L1 no T no B (nº 30 de nuestra serie).

En este enfermo, ocurrió un cambio de estirpe celular de su proceso leucémico en el momento de la recaída. Diagnosticado al inicio de una leucemia linfoblástica aguda, posteriormente cambió a leucemia aguda monocítica (Del Potro y cols. 1988). La apreciación en este caso de un cambio de estirpe celular ofrece un gran interés, ya que se discute si la anomalía 11q23 se asocia a la leucemia aguda linfoblástica o a una leucemia de características mielomonocíticas.

Anomalías cromosómicas con participación de 11q23 se han visto en varias leucemias agudas. Una específica es la translocación 9;11 (p21 ó 22;q23) asociada a la leucemia aguda monocítica (Hagemeyer A. y cols. 1982); otra la translocación 4;11, ya comentada. En 11q23 se ha localizado un oncogén, el c-est1, que puede jugar un papel en el desarrollo de la leucemia (De Taisne y cols. 1984).

Fan y cols.(1988), refieren esta translocación con diferentes puntos de rotura en el cromosoma 9 en una leucemia aguda linfoblástica tipo T y morfología L2.

Un caso con cambio de estirpe celular y afectación de 11q23 es descrito por Abe y cols.(1988). El enfermo fué diagnosticado de LLA tipo L2, sin embargo las células tenían positividad para antígenos antimieloides monoclonales y los

marcadores eran linfoides. Las leucemias con alteración de la región q23 en el cromosoma 11, se consideran por algunos autores dentro de un subtipo específico independiente (Kaneko y cols. 1986).

G- ANOMALIAS NUMERICAS RELACIONADAS CON LA LLA

1- Trisomía 3 y trisomía 8

Estas trisomías se observan en algunos casos de linfoma no Hodking, atribuyendosele por algunos autores un papel en los procesos linfoproliferativos (Fleischman EW y cols. 1977; Kaneko Y. y cols. 1982).

La trisomía 8, tan frecuente en la leucemia aguda no linfoblástica, nosotros la encontramos solo en dos casos de leucemia aguda linfoblástica. Uno de ellos, se trataba de una mujer de la serie de adultos, cuya leucemia tenía características de células B. Las anomalías que le acompañaron fueron: una trisomía X, una trisomía 21 y una translocación 4;11. Teniendo en cuenta que la translocación 4;11 se puede considerar como una de las anomalías específicas, la ganancia del cromosoma 8 entraría dentro de los sucesos considerados secundarios. El segundo caso con trisomía 8, fué un niño con una L1 no T no B. Se acompañó también de otras trisomías y, al igual que la anterior, de una de las translocaciones específicas: la translocación 9;22, por lo que la trisomía 8, se puede considerar que presenta las mismas características que en el primer caso.

En cuanto a otra de las trisomías consideradas como relacionadas con los procesos linfoproliferativos: la trisomía 3, no la encontramos en ningún caso en nuestra serie.

2- Otras trisomías

Las anomalías numéricas encontradas como un hecho primario en las leucemias, son raras comparadas con las translocaciones, inversiones ó deleciones. Casos con anomalías numéricas solamente y con menos de 50 cromosomas, que consideraremos en un grupo aparte, solo aparecieron 5 : 3 en la serie de adultos y 2 en la infantil. De ellos fueron 4 varones y 1 hembra. En un caso, el caso nº 12 de la serie de adultos, la anomalía numérica fué una monosomía : la monosomía 21. Los otros 4 casos tenían trisomía de diferentes características. Los cromosomas que participaron fueron el 5, 13, 21 y 22.

Solo las trisomías 4, 8 y 11 en la leucemia aguda no linfoblástica y la trisomía 21 en la leucemia linfoblástica, han sido aceptadas como cambios primarios (Sandberg AA 1986)

El cromosoma 5 contiene determinados genes relacionados con la hematopoyesis y por ello, se puede pensar, que la trisomía pueda ser determinante en algunos casos del desarrollo del proceso neoplásico. Estos genes incluyen entre otros el "fms", un grupo de genes que tiene un papel en el crecimiento y diferenciación de la célula mieloide (CSF-1, CSF-2, GM-CSF y PDGFR) y otro grupo, que juega un papel en el metabolismo celular (YRL, DHFR y HPRT2). La trisomía del cromosoma 5 no es infrecuente en los linfomas y se ha descrito igualmente en la leucemia linfoblástica aguda (Sandberg A.A. 1988). Nuestro caso de trisomía 5 era un varón de la serie infantil con leucemia aguda linfoblástica del tipo T, asociada a trisomía 22. En este caso, al estar unida a la trisomía 22, no se puede asegurar un papel primario en la enfermedad.

En lo que se refiere al cromosoma 21, se ha pensado siempre que esta trisomía podía tener un papel especial en las leucemias, al ser la anomalía cromosómica que produce el síndrome de Down, tan relacionado con esta patología hematológica. Esta trisomía es muy frecuente en las leucemias agudas, llegando a un 20% en los niños con leucemia linfoblástica aguda (Thir International Workshop on chromosomes in Leukemia 1980 (1981). No solo como anomalía numérica se produce la trisomía 21, hay así mismo casos en los cuales la anomalía es estructural y conduce a las mismas consecuencias que la de tipo numérico: un aumento de la dosis génica de este cromosoma (Dube y El-Solh, 1986). El único caso de nuestra serie con aumento del número de cromosomas del par 21, fué una leucemia congénita que comentaremos en capítulo aparte.

El oncogén c-ets 2, se localiza en el cromosoma 21, en las bandas 21q22.1-22.3 (Watson y cols.1985), encontrándose que este oncogen se transloca al cromosoma 8 en la translocación específica (8;21). Seth y Watson (1989) demuestran que la dosis extra o la sobre-expresión del "ets 2" murino, tiene actividad mutagénica y oncogénica "in vitro" e "in vivo". Apoyando estos trabajos, se encuentra recientemente la publicación de Santoro y cols. (1992) en donde se relata la amplificación del "ets 2" en un caso de LANL con translocación (6;21;18). Parecen existir, por tanto, evidencias de que dosis extra del cromosoma 21, tanto en forma constitucional (síndrome de Down) como adquirida, representa una sobreproducción de la función del gen "ets 2".

Otro de nuestros casos presentaba como única anomalía una trisomía del cromosoma 13.

La importancia de la patología del cromosoma 13 en las leucemias no ofrece duda en lo que respecta a la pérdida de la banda q14; en la mayoría de los casos por delección intersticial (Johnson y cols. 1985).

La escasa frecuencia de anomalías numéricas únicas, queda constatada también en el tercer Workshop, en donde encuentran ganancia o pérdida de un único cromosoma solo en 4 casos.

3- Hiperdiploidía de más de 50 cromosomas

Dentro de este grupo, hemos incluido 10 casos; de ellos 7 pertenecientes a la serie infantil y 3 a la serie de adultos. De los niños, la mayoría correspondieron a varones (5 de los casos). En la serie de adultos, todos fueron hembras. Salvo un caso que tenía marcadores B, los restantes correspondieron a un inmunofenotipo no T no B. En cuanto a la morfología, 6 correspondieron a la L1, 3 a la L2 y el de marcadores B a la L3.

Berger y cols. en 1990 publican 44 casos de leucemia aguda linfoblástica de células T. Encontraron hiperdiploidía de más de 50 cromosomas en 1 caso únicamente. Nosotros no hemos encontrado ningún caso de estas características dentro del grupo de la leucemia linfoblástica T.

H- ANOMALIAS ESTRUCTURALES NO RELACIONADAS CON LA LLA

1- Inversiones

Esta alteración es de gran rareza en la leucemia aguda. Solo encontramos 2 casos con inversión cromosómica. Una de estas inversiones era de tipo constitucional, la inversión pericéntrica del cromosoma 9. La otra inversión hallada fué de carácter adquirido y afectaba al cromosoma 1, con puntos de rotura en p36 y q31 y asociada a una translocación 9;22

junto con otras anomalías, entre las que se encontraba un cromosoma en anillo. Este caso (nº91 de nuestra serie) ofrece un cariotipo infrecuente en las leucemias agudas tanto por la inversión como por el anillo.

2- Isocromosomas

En los leucemias agudas se ha encontrado esporádicamente este tipo de alteración. Los isocromosomas consisten en la formación de una figura con dos brazos idénticos unidos por un centrómero, originado por una división transversal de este o en un cromosoma dicéntrico, cuando la división es en la región paracentromérica (de la Chapelle 1982).

El ejemplo más conocido de isocromosoma, dentro de las enfermedades hematológicas malignas, es el isocromosoma 17 en la crisis blástica de la LMC. Han sido descritos otros varios (Sandberg AA 1980). De Vinuesa y cols.(1987), refieren 9 enfermos con isocromosomas y enfermedades hematológicas malignas; de ellos 5 tenían leucemia, 1 anemia sideroblástica y 3 enfermedades linfoides malignas. Estos últimos eran 2 linfomas y una micosis fungoide. Los isocromosomas que encontraron fueron de los cromosomas 7,11,17 y 21.

Nosotros encontramos en nuestra serie, un caso cierto de isocromosoma (9q) y otro que se puede interpretar como un isocromosoma o una translocación Robertsoniana (13q).

El isocromosoma de los brazos largos del cromosoma 9, se puede considerar como un caso excepcional, en el que estaban involucrados los dos cromosomas del par 9. Uno como isocromosoma y el otro, formando parte del cromosoma Philadelphia. Este caso pertenecía a la serie infantil, era una hembra y su leucemia se clasificó como L1, no T no B.

En cuanto el caso del isocromosoma 13 ha sido comentado en el apartado de las translocaciones.

3- Cromosomas en anillo

La proporción de cromosomas en anillo fué muy baja. Si se exceptúan los microcromosomas cuyo origen es discutible, solo observamos 1 caso con este tipo de alteración. Contrasta con la mayor frecuencia de esta anomalía en nuestra serie de LANL, en la que se aparecieron 7 casos con anillos. Werner-Faure y cols.(1986), encuentran en su serie de 292 pacientes con enfermedades hematológicas, 9 con cromosomas en anillo: siete adultos y dos niños. En ocho de ellos el anillo fué adquirido, mientras que el noveno era constitucional. Este último se trataba de un anillo del cromosoma 21. De los 9 casos, 2 correspondían a leucemia linfoide aguda, siendo una de ellas la del anillo constitucional, por lo que solo un caso de LLA, había adquirido un anillo debido a su proceso hematológico maligno.

La descripción de anillos asociados a las enfermedades hematológicas malignas fué ya descrito por Sandberg y cols. en 1962. Posteriormente recoge en su libro (Sandberg 1980), una docena de casos. Sadamori y cols. en 1983, comentan 50 de ellos y posteriormente Sandberg (1990) recoge 85, de los cuales solo 2 aparecen en LLA, correspondiendo la mayoría de ellos a la LANL, tipo M6.

Los anillos se consideran formados por la fusión de los extremos cromosómicos rotos (Dutrillaux y cols. 1978). Generalmente, se trata de una anomalía inestable que puede interferir o impedir la división celular. Sin embargo los anillos en las leucemias presentan una perspectiva diferente:

en ellas superan la división celular y se perpetúan, formando parte del clon patológico. Le confieren a la enfermedad que los porta una gran agresividad y la supervivencia media, después de la aparición de un anillo, es muy corta.

Se ha demostrado que los cromosomas en anillo pueden ser inducidos por radiación o quimioterapia. No obstante, en las revisiones de Sadamori y cols, y en la de Werner-Favre y cols., la mayoría de los enfermos no tenían una exposición conocida a agentes mutagénicos.

Nuestro caso, se presentó con anomalías asociadas complejas: monosomía 3 y 7, translocación (9;22) (q34;q11), inversión del cromosoma 1 y delección del cromosoma 9. Esta línea derivaba de otra en la que el anillo no existía. Este dato, junto con la existencia de una de las translocaciones específicas: la translocación 9;22, hace pensar que representa una evolución de la célula tumoral y no se encuentra en relación con el origen de la enfermedad. Esta anomalía es una de las que corroboran el hecho de que las asociaciones con el cromosoma Philadelphia, son muy diferentes en las leucemias agudas y en la leucemia mieloide crónica. Este enfermo tampoco tenía exposición conocida a mutágenos.

4- Microcromosomas y dobles cromosomas minutos (DMS)

En un caso encontramos dobles cromosomas minutos; se trataba de un enfermo de la serie de adultos tipo L2 e inmunológicamente pre-B. No se pudo conocer su evolución.

En otros 2 casos se encontró un microcromosoma. Uno de ellos lo tenía como única anomalía; era una L1 de la serie infantil, inmunológicamente no T no B. Este enfermo tuvo una

supervivencia de 5 meses. En el otro caso, el microcromosoma se presentaba asociado a una de las translocaciones específicas: la translocación 4;11.

Los dobles cromosomas minutos son excepcionales en las leucemias agudas, ya que su frecuencia máxima se cifra en un 3-4% de todas las leucemias (Li 1983).

Los DMS se ven como pequeños puntos dobles con aspecto de fragmentos o anillos. Se trata de pequeñas partículas de cromatina que se replican y segregan en ausencia del centrómero. Es un hecho sin explicación convincente hasta la fecha, el que estas estructuras puedan persistir sin región centromérica en la población de células tumorales ya que, como es sabido, la replicación y segregación de los cromosomas implica la presencia de DNA centromérico. El que los DMS no se pierdan en la división puede deberse a una replicación o segregación anormal. También puede ser que los DMS perduren por una transferencia extramitótica entre las células.

Balaban-Malenbaum y Gilbert (1980) proponen que el origen de los dobles minutos deriva de otro tipo de anomalía cromosómica, a saber, las regiones de tinción homogénea (HSR). Lo han intentado demostrar hibridando células de un neuroblastoma que tenía regiones de este tipo y una línea de fibroblastos de ratón. Obtuvieron de este modo clones híbridos con DMS y desaparición de las HSR, estimando en consecuencia que los DMS se originan por rotura de estos últimos.

Los HSR y DMS, se han descrito también en líneas celulares resistentes al Methotrexate, caracterizadas por la producción de un enzima particular: la dihidrofolato reductasa (DHFR). La hibridación in situ, usando sondas de DNA específicas para este gen (DHFR), han mostrado que en las

HSR pueden estar localizadas múltiples copias del gen, o lo que es lo mismo, que los DMS y HSR constituirían fenómenos iguales de amplificación de tales genes (Schwah y cols. 1983; Trent y cols. 1984; Krizman y cols. 1985).

Recientemente se ha prestado mayor atención al papel de las HSR en la biología de las células del cáncer, pareciendo probable su conexión con la localización de oncogenes (Kovacs 1985). En el neuroblastoma, donde es más frecuente este tipo de alteraciones, se ha demostrado que las secuencias de DNA amplificadas se limitan al oncogén c-myc (Shwab y cols. 1984; Rudduck y cols. 1992).

Al valorar los DMS en la leucemia, se piensa que pueden existir dos categorías diferentes: unos, los comentados anteriormente y otros formados por la fragmentación de cromosomas (Bullerdiek y cols. 1983).

En cuanto a la relación con el momento de la enfermedad, hay algunos documentos, aunque escasos. Hartley y Toolis (1980), describen un caso de LANL en el que en el momento del diagnóstico encuentran que en sangre periférica y médula ósea hay un 50% de las células con DMS, desapareciendo estos cuando el enfermo entra en remisión tras la aplicación de quimioterapia. Ohyashiki y cols. (1987), encuentran en un caso de leucemia aguda no linfoblástica tipo M4, dobles cromosomas minutos. Nosotros, en nuestra serie de LANL encontramos también un caso con DMS. En nuestro enfermo, no se pudo conocer la evolución al morir en el periodo de inducción. Estos casos, en los que la única anomalía son los DMS, son interesantes en cuanto que pueden aportar conocimientos sobre la relación de esta anomalía con el pronóstico de la leucemia. La mayoría de las veces, se asocian a otras anomalías que pueden tomar parte en la mala evolución del tumor. No obstante, muchos autores piensan que

los tumores o leucemias que tienen esta amplificación de genes, son muy agresivos y con pobre respuesta al tratamiento (Cooperman y cols. 1981).

Weh y cols.(1982), han descrito 2 leucemias secundarias (una M2 y una M6) con DMS. Ampliando su revisión a casos con leucemia secundaria descritos en la literatura, observaron que no es un hecho raro después del tratamiento con radiaciones o quimioterapia.

5- Deleciones

En anteriores capítulos hemos comentado deleciones de los cromosomas 6, 9 y 11. En nuestra serie hemos encontrado también otra deleción que se considera ligada a determinados procesos hematológicos malignos, la deleción del cromosoma 12 (Sandberg 1983).

Que el cromosoma 12 no participa al azar en los procesos hematológicos malignos y premalignos, es un hecho constatado recientemente por diversos autores (Wilmoth y cols. 1985; Zaccaria y cols. 1985; Berger y cols. 1986 y Weh y cols. 1986; Iurlo y cols. 1989; Cargone y cols. 1992). Todos ellos han hecho referencia a la mayor participación de dicho cromosoma en procesos neoplásicos hematológicos secundarios. En concreto Wilmoth y cols., estudian 20 pacientes con LANL o SMD que habían recibido terapia con Alkeran y en 4 de ellos, encontraron la deleción del cromosoma 12 a nivel de p11p12. En esta región se ha localizado precisamente un oncogén, el c-ras-2, cuyo punto exacto de localización se ha situado en p12.1 (Jahnwar y cols.1983; Saguchi 1983). En la misma línea de estudio Zaccaria y cols.(1985), describen otros 4 enfermos con reajustes del cromosoma 12, igualmente a nivel de la banda p11.

Esta anomalía no corresponde, sin embargo, a ningún tipo de leucemia en especial ya que se ha visto tanto en la LANL como en la LLA; en preleucemias y en linfomas. La mayoría de las veces se trata, como queda dicho, de procesos secundarios o está asociada a otras anomalías que quizás tengan un papel más principal o primario en el desarrollo de la enfermedad.

La revisión más amplia de este cromosoma hasta la fecha, la han realizado Berger y cols.(1986). Revisan estos autores 18 enfermos con anomalía del cromosoma 12; de ellos 7, tenían una leucemia aguda no linfoblástica "de novo" mientras que los otros 11, presentaban síndromes dismielopoyéticos o LANL secundarias a tratamientos de otras neoplasias. Como en otros casos de deleciones, se piensa aquí que la alteración de ese cromosoma puede dar lugar a la expresión de un gen recesivo mutado.

Los dos enfermos de nuestra serie con deleción del 12 a nivel de p11p12, presentaban diferentes características. En uno de los casos, se trataba de una hembra de la serie infantil con inmunofenotipo no T no B (caso nº11). La deleción estaba asociada a una de las translocaciones específicas: la translocación 4;11, por lo que se puede considerar como una anomalía secundaria.

El otro caso correspondía a la serie de adultos (caso nº86); era una hembra con una L2, de fenotipo inmunológico T, que apareció asociada a otras anomalías. Falleció inmediatamente posterior al trasplante de médula ósea.

En ninguno de estos 2 casos se tuvo conocimiento de exposición a mutágenos.

I-CITOGENETICA DE LOS PROCESOS LINFOPROLIFERATIVOS T

El estudio de procesos linfoproliferativos en nuestra serie consta de 9 casos de la serie de adultos y 6 casos de la serie de niños.

En la serie de adultos, un caso fue estudiado después de realizarle trasplante de médula ósea y el resultado, como era de esperar, fue normal. En la serie de niños un caso se estudió postrasplante y otro en remisión, siendo ambos normales. Tanto en la serie de adultos como en la de niños, un 50% de los casos fueron patológicos.

En la serie de adultos, 2 casos presentaban anomalías simples y en otros 2, las anomalías fueron de tipo complejo. Estos dos últimos, tuvieron en común una alteración estructural del cromosoma 9. La mayoría de las deleciones encontradas en nuestra serie aparecieron en ellos. En uno, aparecieron delecionados los cromosomas 5, 6, 11, 13 y 15 junto con un 14q+, en el que no se pudo identificar el material extra dado que aparecían otros marcadores que dificultaban la interpretación. En el otro, las deleciones fueron del 9 y 12. Los 2 casos patológicos en la serie infantil, fueron igualmente de tipo complejo. En uno, existían 2 translocaciones (t(1;7) y t(5;9) y en el otro, además de una translocación t(6;13), tenía 3 cromosomas con anomalías de estructura (cromosomas 1, 12 y 17).

En la translocación 1;7, el punto de rotura en el cromosoma 7 tuvo lugar a nivel de la banda p15. Esta región, 7p15, es el locus del gen de la cadena gamma del receptor de células T (Kaneko y cols. 1988).

Otro de los puntos de rotura, relacionados con los procesos linfoproliferativos T que encontramos en nuestra serie, fue la delección de 6q, siendo en esta región de los brazos largos del cromosoma 6 donde se sitúa el proto-oncogen "c-myb". En los estudios realizados en enfermos con esta alteración no se han encontrado reordenamientos del locus ni su pérdida, pero sí se ha visto por Barletta y cols. (1987), una mayor expresión del "c-myb" en las células con la delección que en las células malignas sin esta anomalía estructural.

Otras regiones cromosómicas que se asocian a LLA-T son la 12p y la 9p (Raimondi y cols. 1986). En nuestra serie de LLA-T, encontramos alteraciones del 12p en un tercio de los casos patológicos y el 9 alterado en la mitad de ellos, aunque en estos últimos variaron los puntos de rotura.

En el trabajo de Berger y cols.(1990) sobre leucemia aguda linfoblástica de células T. Un 25% de ellos fueron normales, encontrando hiperdiploidía de más de 50 cromosomas solo en 1 enfermo. Algunas de las anomalías cromosómicas encontradas por estos autores, al igual que en nuestros casos, fueron similares a las descritas en otras leucemias linfoblásticas: 6q-, 9p-, y 12p-, confirmando que estas alteraciones no son específicas de ningún tipo de leucemia linfoblástica aguda. Analizan así mismo la incidencia de alteraciones en los cromosomas 7 y 14, en donde se encuentran los loci de los genes de los receptores de las células T. Encuentran un 36% de reajustes de estos cromosomas dentro los casos con cariotipo anormal, lo que corresponde a un 27% dentro del total de los casos estudiados.

En la serie de Berger y cols, hubo una predominancia de varones: 35 varones y 9 hembras. Estos datos son coincidentes con los nuestros en donde 11 fueron varones y 4 hembras. De los 33 enfermos patológicos estudiados por estos autores, 29 fueron AN y los 4 restantes fueron AA. Nosotros encontramos 4 AA y 2 AN.

Es importante resaltar que en las neoplasias de células T, los reajustes a nivel de los loci de receptores de células T solo ocurren en un 20% de los casos. En esto se diferencian de las neoplasias de las células B, en las que los reajustes a nivel de la zona donde se localizan los genes de las cadenas pesadas de las inmunoglobulinas, aparecen en alrededor del 50% de los casos (Heim S. y Mitelman F. 1987)

J-CITOGENETICA DE LOS CASOS SOMETIDOS A TRASPLANTE DE MEDULA OSEA

El trasplante de médula ósea es una terapéutica cada día más difundida en el tratamiento de las enfermedades hematológicas malignas. Varios son los marcadores que se utilizan en el reconocimiento del injerto y entre ellos se encuentran los citogenéticos. Aunque este proceder ha sido utilizado sistemáticamente durante estos últimos años, todavía se conoce muy poco respecto al comportamiento de las células del donante y receptor.

Los parámetros citogenéticos utilizados para el estudio de la médula ósea postrasplante son:

a) La diferencia en la fórmula sexual, cuando los enfermos son de distinto sexo.

b) La búsqueda de polimorfismos cromosómicos, si ambos son del mismo sexo.

c) La normalización del cariotipo, previamente patológico.

d) En casos excepcionales por su rareza, la existencia de anomalías constitucionales en el donante o receptor. (Sark 1981).

Nosotros estudiamos 16 enfermos de nuestra serie que fueron tratados con trasplante de médula ósea. En 5 casos se conoció el cariotipo inicial y en 11 solo el cariotipo realizado después de haber efectuado el trasplante.

De los 5 casos estudiados al inicio de la enfermedad, 4 fueron patológicos. En 3 de ellos, la patología consistió en la presencia de un cromosoma Philadelphia que desapareció en el estudio postrasplante. En otro caso (nº 91), aparecieron anomalías complejas entre las que se encontraba el cromosoma Philadelphia, inversiones, anillos... y en el cariotipo realizado después del trasplante, el resultado fue normal en los diversos controles efectuados; los casos con esta patología cromosómica (anillos, inversiones, etc.), excepcionalmente sobreviven a los pocos meses del diagnóstico. Este enfermo persistía, en una situación clínica y hematológica de normalidad, a los 2 años de efectuado el trasplante.

En 13 casos de los 16, hubo un cambio de sexo cromosómico en las células de la médula ósea, lo que permitió reconocer el trasplante a los pocos días de efectuado. En un caso que recidivó, se encontraron en el cariotipo de médula ósea células del donante y del receptor.

El estudio cromosómico efectuado en la médula ósea de un paciente trasplantado, nos ayuda a reconocer el origen de las células. La citogenética de los trasplantes, no solo tiene interés para identificar el origen celular, sino que también nos da información sobre las recaídas de la enfermedad y en que célula tiene lugar esta recaída, como lo apoyan los estudios realizados por Zaccaria y cols (1987) en la leucemia linfoblástica aguda.

Los trabajos efectuados sobre este tema no son muy abundantes. Gödde-Salz en 1986 publica 27 casos en los que hicieron estos estudios y comenta que los estudios citogenéticos constituyen uno de los marcadores más precoces. De los 27 enfermos publicados, 16 tenían un cambio de sexo; en 8 había diversos marcadores y en uno, aparecía una variante polimórfica del cromosoma 9. Se identificaron las células del donante en 25 casos de 27. El momento de la identificación varió entre 10 y 21 días.

K-ANOMALIAS CONSTITUCIONALES

Solo 2 casos presentaban anomalías constitucionales y de ellos, 1 era una variante polimórfica: la inversión del cromosoma 9, que se considera sin repercusión clínica. En este caso la inversión se asociaba a un cromosoma Philadelphia.

El otro caso con un problema cromosómico constitucional, fue un varón de 16 años diagnosticado de leucemia aguda linfoblástica no T no B; su cariotipo constitucional mostraba la ganancia de un cromosoma Y. En la

célula leucémica, no se vieron anomalías asociadas, aunque en un estudio posterior se encontró un cromosoma extra del grupo C, sugiriendo un fenómeno de evolución clonal (Pérez de Oteyza y cols.).

La incidencia de anomalías constitucionales en nuestra serie no es mayor que la existente en la población general.

En el tercer Workshop encuentran 5 niños con anomalías constitucionales: 4 con síndrome de Down y uno con síndrome de Klinefelter. Dos adultos tenían una translocación Robertsoniana. La incidencia de anomalías constitucionales (2,1%), es más alta que en la población general (0,73%), lo que no ocurre en nuestra serie (0,9%).

La búsqueda de una relación entre anomalía constitucional y leucemia (Alimena y cols.1985) es constante en la literatura mundial, aunque no se han podido obtener resultados concretos salvo en lo que se refiere a la trisomía 21 o síndrome de Down.

La asociación del síndrome de Down con la leucemia es un hecho ampliamente documentado. La incidencia de leucemia en estos enfermos es 20 veces mayor que en la población general. Los tipos de leucemia son similares a los que tienen lugar en la población general. La leucemia aguda congénita, ocurre también con una frecuencia mayor en los pacientes con síndrome de Down. En el estudio más amplio realizado en enfermos con alteraciones constitucionales y leucemia (Groupe Francais de Cytogenetique Hematologique. 1988), se analizaron 56 enfermos. Entre ellos se encontraban : 25 con trisomía 21; 9 con anomalía del par sexual y 22 con un reajuste estructural. En el grupo con síndrome de Down, 11 tenían LLA. De los casos con LANL, 2 presentaban una leucemia aguda megacarioblástica. Este hecho les llama la atención y

sugieren que la trisomía 21 puede estar en relación con la megacariopoyesis (Simon JH y cols. 1987).

En las reacciones leucemoides congénitas, no es infrecuente encontrar niños fenotípicamente normales, con una línea con trisomía 21 en el estudio medular. En el tercer Workshop sobre cromosomas y leucemias, aparece también la trisomía 21 como la anomalía cromosómica más frecuente en la LLA de personas constitucionalmente normales. Esto apoya también la íntima relación de la trisomía 21 con la proliferación medular anormal.

No todos los niños con trisomía 21 desarrollan leucemia, lo que lleva a sospechar que esta anomalía constituye la primera mutación, siendo necesario una segunda mutación para declararse la enfermedad (Knudson AG y Strong LC 1972).

XYY

Un comentario especial requiere la anomalía encontrada por nosotros, la del varón 47,XYY.

Esporádicamente se publican en la literatura casos de varones XYY que desarrollan un proceso hematológico maligno. Ohyashiki y cols.(1982) y Chaganti y cols. (1984), describen 2 varones con este cariotipo constitucional y leucemia mieloide crónica. Alimena y cols.(1985) y Ohyashiki y cols.(1987), publican 3 pacientes con síndrome XYY y leucemia aguda no linfoblástica.

Entre los casos de aneuploidía del par sexual que recoge el grupo francés de citogenética hematológica, se describen 2 casos con un cariotipo constitucional XYY. Los

diagnósticos fueron SMD y LLA tipo L1, de la clasificación de la FAB. En el cariotipo de las células leucémicas del caso con leucemia aguda linfoblástica, no se encontraron anomalías adicionales a este doble Y.

Benitez y cols.(1987), publican 9 casos con alteraciones hematológicas asociadas a un cariotipo constitucional anormal. De ellos uno tenía una LLA y cariotipo XYY.

L- LEUCEMIA CONGENITA

El número 99 de nuestra serie fue una leucemia congénita en un varón. Su leucemia fue de tipo no T no B y morfológicamente correspondió a una L1.

El cariotipo de este niño mostró una pentasomía 21 al inicio de la enfermedad. Los estudios realizados en remisión fueron todos normales. El cariotipo constitucional, realizado en sangre periférica estimulada con Phitohemaglutinina y en fibroblastos de piel, fue normal.

Sikand y cols 1980, refieren una niña fenotípicamente normal, con un estado preleucémico y trisomía 21 en médula ósea. En fibroblastos, el cariotipo, al igual que en nuestro caso, fue normal. Roger y cols. 1983, refieren un recién nacido con síndrome de Down y leucemia congénita transitoria que tenía 2 líneas celulares: una trisómica 21 y otra con pentasomía 21, la pentasomía 21 desapareció cuando remitió espontáneamente su proceso hematológico. Otro caso con este tipo de leucemia y pentasomía 21, es el referido por Van den Berghe y cols., en 1983.

En el cromosoma 21 se encuentra localizado el oncogén Hu-ets-2 (Watson DK y cols.1985), pudiendo este oncogén estar implicado en la formación del proceso leucémico.

M-DIFERENCIAS EN LOS RESULTADOS OBTENIDOS SEGUN EL TIPO DE CULTIVO REALIZADO

El número de casos en los que se realizó más de un cultivo simultaneo fue de 15.

La única variación consistió en la proporción de la línea patológica encontrada en un enfermo. En este caso se apareció el cromosoma Philadelphia en el 20% de las metafases estudiadas por método directo y en el 75% de las metafases obtenidas en cultivo con methotrexate.

Estos datos son coincidentes con nuestra experiencia en la leucemia aguda no linfoblástica. En dicha serie, de 148 enfermos, se hicieron cultivos de corto tiempo, además del método directo, en 26 casos. Solamente en dos encontramos diferencias según el método utilizado y, estas diferencias, también consistieron en una variación en la proporción de la línea patológica. En ambos casos hubo un aumento de la línea patológica con el método de cultivo con methotrexate.

En ambas series no encontramos ningún cambio de la línea normal a anormal o de anormal a normal.

Las diferencias en los resultados del cariotipo según el tipo de cultivo realizado, es un aspecto que bajo la apariencia de poca importancia, reviste un gran interés en el enjuiciamiento del significado de las anomalías cromosómicas en las leucemias agudas. Si los métodos in vitro, no nos

ofrecen una clara relación de los hechos que están ocurriendo in vivo, las conclusiones tendrán que ser algo cautelosas, refiriéndonos sobre todo al valor pronóstico que se le da al cariotipo en las leucemias.

En algunas ocasiones, el no encontrar anomalías puede deberse a que el estudio se hace en un número de metafases limitadas; en otros casos, puede ocurrir que la línea patológica no se manifieste en el cultivo. También puede haber errores en la apreciación de si un caso tiene solamente línea patológica o, por el contrario, conserva línea celular normal. En cultivos de corta duración se han visto anomalías que no se habían detectado con el método directo (Testa y cols. 1983). Sin embargo las diferencias encontradas según los diferentes cultivos utilizados, no son alarmantes, salvo en el caso concreto de la leucemia aguda promielocítica (Fitzgerald y cols. 1982).

Un trabajo específicamente dirigido al análisis de este tema es el de Dewald y cols. en 1985. Analizando 90 enfermos con enfermedades hematológicas en las que se hicieron diferentes tipos de cultivos, solo se encontró diferencia en uno de ellos diagnosticado de mielodisplasia. En este caso, se encontró alteración cromosómica clonal en el estudio directo y no en el de 24 horas, si bien las metafases que estudiaron fueron muy pocas, sobre todo en el cultivo de 24 horas (9 metafases). Esta circunstancia reduce la fiabilidad del resultado y además, reafirmando lo dudoso de este caso, está el dato de que en el estudio directo la línea patológica era muy baja ya que solo la encontraron en 2 metafases de 15 que analizaron. Cuatro casos de esta misma serie, estudiados por el método directo fueron AN y en los cultivados AA, y en otros 2 casos ocurrió a la inversa, fueron AA en el directo y AN en el cultivo de 24 horas. Estas diferencias no resultaron significativas.

Existen varios trabajos más que reafirman que los cultivos de corto periodo de tiempo ayudan a poner de manifiesto las anomalías cromosómicas (Knnutila y cols. 1980; Fitzgerald y cols. 1982). Otros trabajos sin embargo, demuestran alteraciones en el método directo que no se observan en los cultivados como el publicado por Weh y cols.(1983). Estos autores refieren un caso de M4 con cariotipo hipotetraploide (79-80 cromosomas) en el método directo, que en los cultivos de 24 y 48 horas presentó un cariotipo normal.

Los ejemplos comentados indican la necesidad de hacer varios cultivos para aproximarse lo más posible a la situación cromosómica verdadera de la célula neoplásica. Estos hechos pueden ser la causa de las discrepancias entre distintos autores en relación al pronóstico que aporta el cariotipo en las leucemias. En numerosos estudios se ha sugerido que aproximadamente el 50% de los pacientes con leucemia aguda tienen anomalías clonales. La mayoría de estos estudios se han realizado por métodos directos. Sin embargo en estudios como el de Misawa y cols.(1986), en 53 pacientes de LANL utilizando cultivos de corto tiempo, con y sin methotrexate, encuentran anomalías en el 84% de los casos.

N- EVOLUCION DEL CARIOTIPO A TRAVES DEL PROCESO LEUCEMICO.

La evolución del cariotipo es un hecho frecuente y reconocido por todos los autores en la leucemia mieloide crónica (Sandberg 1980, 1990), sin embargo en la leucemia aguda es un hecho raro (Testa y cols. 1979; Fourth International Workshop on Chromosomes in leukemia 1984).

La evolución del cariotipo cuando ocurre durante el curso de la LLA, puede significar una progresión del tumor.

En el tercer Workshop, estudiaron 11 casos a lo largo de la enfermedad encontrando el mismo clon en las recaídas, aunque en 8 de ellos evolucionado. Incluyeron casos que habían sido tratados y no respondieron a la terapia, permaneciendo anormales.

La evolución del cariotipo a lo largo de la enfermedad puede ser de dos tipos, según venga a sumar anomalías adicionales al primer cariotipo anormal o determine que un primer cariotipo que en principio fue normal, sea posteriormente anormal.

La evolución clonal ayuda a pensar que el origen de la enfermedad es unicelular y el cariotipo progresa en base a la inestabilidad genética dando lugar a subpoblaciones mutantes, con aumento de las propiedades malignas (Nowell 1976).

Hay algunos autores que piensan que esta evolución clonal, puede ser debida a una variación en la proporción de clones y su visualización dependerá de esta proporción (Lawler y cols. 1980).

En nuestra serie realizamos más de un estudio cromosómico en 26 enfermos. De los casos estudiados en recaída, fueron anormales 7(A-A) al igual que al inicio; 1 tenía anomalías asociadas a las del inicio (A-A+) y 1 pasó de ser normal (tenía una anomalía constitucional, pero no de la célula neoplásica) a anormal (N-A). Solo se vió evolución clonal, por tanto, en 2 casos.

Es de destacar uno de los casos en el que los estudios se hicieron en remisión y en recaída. Como es sabido, el

cariotipo en remisión de un caso con leucemia aguda es normal salvo que el paciente sea portador de una anomalía constitucional. Sin embargo el paciente nº 27 de nuestra serie, un varón con una leucemia tipo L1 no T no B, no mostró este comportamiento. En su cariotipo, al entrar en remisión, persistía una translocación 5;20 y desaparecía la 9;22. El cariotipo en sangre periférica, fue en todo tiempo normal.

Estos estudios han servido, entre otros, para dividir las alteraciones en primarias y secundarias. Normalmente las anomalías que aparecen a lo largo de la enfermedad son del segundo tipo. Se piensa que las alteraciones secundarias no ocurren al azar, pudiendo estar condicionadas por la anomalía primaria o por el tipo de tumor.

Ñ- ANOMALIAS DEL PAR SEXUAL.

En 5 casos encontramos alteraciones del par sexual. En ellos variaron tanto los diagnósticos morfológicos como los inmunológicos. Se encontraron tanto en la L1 como en la L2 y la L3 y en cuanto a los fenotipos inmunológicos, 2 se diagnosticaron de células T, uno de células B y uno de células no T no B. En un caso no se hicieron marcadores.

En 3 casos hubo ganancia de un cromosoma X y en 2 pérdida de este cromosoma; en todos ellos hubo anomalías asociadas, que fueron de tipo complejo.

En un caso con pérdida del cromosoma X, este se presentó como un fenómeno de evolución clonal, por lo que hay que considerarlo como una anomalía de tipo secundario. En nuestra serie de LANL, solo se encontró un caso con pérdida del cromosoma X y ninguno con ganancia.

La relación del cromosoma X con las neoplasias intenta vincularse, como en todas las cromosomopatías, a determinados oncogenes. En el caso de este cromosoma le ha sido asignado el c-Haras 2 (O'Brien 1983).

El Y tuvo una escasa participación en nuestra serie, como anomalía adquirida solo lo encontramos en un enfermo. Este caso consistía en una duplicación del cromosoma Y. La ganancia de este cromosoma es excepcional en las leucemias.

No encontramos ningún caso con pérdida del cromosoma Y, esto también es un hecho que llama la atención ya que la pérdida del cromosoma Y se ha relacionado con el envejecimiento de las células de la médula ósea y se encuentra con cierta frecuencia en estos estudios (O'Riordan y cols. 1970; Secker-Walker 1971; Pierre y Hoagland 1972). La pérdida del cromosoma Y se ha mostrado evidente cuando la edad de los varones supera los 60 años.

VI- CONCLUSIONES

- 1- La frecuencia de anomalías cromosómicas en la serie ha sido del 63,8%, proporción similar a la encontrada en otras series.
- 2- En las leucemias con fenotipo B la frecuencia de alteraciones cromosómicas ha sido del 75%. En el grupo no T no B la frecuencia ha sido del 67,3% y en el grupo de leucemias por linfocitos T, ha aparecido una frecuencia del 50%.

En las leucemias tipo T, es frecuente la aparición de roturas cromosómicas en los puntos : 6q21, 7p15, 9p22 y 12p12, pudiendo ser considerados como específicos de este subgrupo.

- 3- Algunos tipos de alteraciones cromosómicas pueden considerarse como específicos en algunos de los subtipos de leucemias. La translocación 8;14 solo se encontró en la L3 y la translocación 9;22 en L1 y L2.
- 4- En la L3 con t(8;14), se ha encontrado de manera excepcional la duplicación de 1q, lo que la separa de los linfomas en los que la asociación es mas frecuente.

- 5- La translocación 4;11 que presenta alta especificidad para las leucemias linfoblásticas, es de presentación heterogénea ya que, aunque la hemos encontrado preferentemente en los tipos L1 y L2, también ha aparecido en L3.
- 6- La anomalía 11q23, encontrada en un caso con cambio de estirpe celular, indica la posible diferenciación tanto mieloide como linfoide del clon celular leucémico.
- 7- La translocación 9;22 del cromosoma Philadelphia se encontró en el 33% de las leucemias con alteraciones del cariotipo. La única variante del cromosoma Ph fue la que implicaba al cromosoma 14 en su banda q32, donde se encuentra el gen que codifica la cadena pesada de las inmunoglobulinas.

El Ph en la LLA se asoció a anomalías no observadas en la LMC: inv (1), iso (9q), r (21).
- 8- Hay que considerar como excepcional la translocación robertsoniana 13;13, aparecida con carácter adquirido en uno de los casos.
- 9- En esta serie, ha quedado "tipificada" como alteración cromosómica adquirida en las LLA, la translocación 5;20.
- 10- En las recaídas de las leucemias linfoblásticas agudas, el cariotipo se mostró similar al de la fase inicial salvo en dos ocasiones (7 %), lo que indica la estabilidad citogenética del clon en este tipo de leucemias.

- 11- El estudio del cariotipo en los enfermos con LLA sometidos a trasplante de médula ósea permite reconocer con prontitud, en el 87% de los casos, el éxito de la implantación de las células transfundidas.
- 12- Se ha encontrado un aumento de la dosis génica del cromosoma 21 en un caso de leucemia congénita con pentasomía 21. Este caso apoya la importancia que puede tener el desequilibrio génico en el desarrollo neoplásico.
- 13- Como hallazgo anecdótico, se encontró un caso de LLA no T no B en un enfermo con cariotipo constitucional 47, XYY.
- 14- La presencia de puntos de rotura en la LLA en 5q, 6q, 8q, 9q, 11q, 12p, 14q, 20q y 21q, como deleciones aisladas o formando parte de las translocaciones específicas, tiene capital importancia, ya que en ellos se encuentran ubicados los oncogenes c-fms, c-myb, c-abl, c-myc, c-est, c-K-ras 2, src, Hu-est2, responsables de la proliferación celular.

VII. BIBLIOGRAFIA

A Cooperative Study. Groupe Francais de cytogenetique Hematologique. Cytogenetic Findings in Leukemic Cells of 56 Patients with Constitutional Chromosome Abnormalities (1989): Cancer Genet. Cytogenet. 35, 243-252.

ABE R., ISHIBASHI R., KIMURA H., UCHIDA T., KARIYONE S. (1985): The significance of Cytogenetic Findings of Erytroid Colonies Derived from a Ph+ ALL Patient: Fundamental Differences Betwem Ph+ ALL and Blastic Phase LMC. Cancer Genet. Cytogenet. 18, 49-54.

ABE R., SATO T., UCHIDA T., KARIYONE S., MORI H., AND SUZUKI H. (1988): Infantile Acute Leukemia with 11q23 Chromosome Abnormality and Lineage Infidelity . Cancer Genet. Cytogenet. 31, 279-283.

ALIMENA G., BILLSTROM R., CASALONE R., GALLO E., MITELMAN F., PASQUALI F. (1985): Cytogenetic Patterns in leukemic cells of patients with constitutional chromosome anomalies. Cancer Genet. Cytogenet. 16, 207-218

ANGLANI F., ARTIFONI L., ZANESCO L., BACCICHETTI C., TENCONI R. (1981): Trisomy 1q and hematologic disorders. Cancer Genet. Cytogenet. 4, 271-279.

ARNOLD, J.(1879): Über feinere Structur der Zellen unter normalen und pathologischen Bedingungen. Virchows Arch. Pathol. Anat. 78, 181-206.

ARTHUR D.C., BLOOMFIELD C.D., LINDQUIST L.L., NESBIT M.E. (1982): Translocation 4;11 in acute lymphoblastic leukemia: Clinical characteristic and prognostic significance. Blood 59, 96-99.

AYRAUD N., DUJARDIN P., AUDOLY P. (1975): Leucemie aigue lymphoblastique avec chromosome Philadelphia. Role probable d'une translocation 14-22. Nouv. Presse Med. 4, 3013.

BALABAN-MALENBAUN G., GILBERT F.(1980): The proposed origin of double minutes from homogenously staining region (HSR)-Marker chromosomes in human neuroblastoma hybrid cell. *Cancer Genet. Cytogenet.* 2, 339-348.

BARLETTA C., PELICCI P.G., KENYONL C., SMITH S.D. and DALLA-FAVERA R. (1987): Relationship between the c-myc locus and the 6q- chromosomal aberrations in leukemias and lymphomas. *Science* 2355, 1064-1067.

BENITEZ J., VALCARCEL E., RAMOS C., AYUSO C., SANCHEZ-CASCOS A.(1987): Frecuency of Constitutional Chromosome Alterations in Patients with Hematologic Neoplasias. *Cancer Genet. Cytogenet.* 24:345-354.

BENNETT J.M.CATOUSKY D., DANIEL M.T., FLANDRIN G., GALTON D.A.G., GRALNICK H.R., and SULTAN C. (1976): Proposals for the classification of the acute leukaemias. *Br.J. Haematol.* 33, 451-455.

BERGER R., BERNHEIM A., BROUET J.C., DANIEL M.T., FLANDRIN G. (1979): t(8;14) translocation in a Burkitt's type of lymphoblastic leukaemia (L3). *Br. J. Haematol.* 43, 87-90.

BERGER R., BERNHEIM A., SIGAUX F., DANIEL M-T., VALENSI F., FLANDRIN G. (1982): Acute monocytic leukemia chromosomes studies. *Leukemia Res* 6, 17-26.

BERGER R., BERNHEIM A., SIGAUX F., VALENSI F., DANIEL M.T., FLANDRIN G. (1985): Two Burkitt's lymphomas with chromosome 6 long arm deletions. *Cancer Genet. Cytogenet.* 15, 159-167.

BERGER R., BERNHEIM A., Le CONIAT M., VECCHIONE D., PACOT A., DANIEL M-T (1986): Abnormalities of the short arm of chromosome 12 in acute nonlymphocytic leukemia and dysmyelopoietic syndrome. *Cancer Genet. Cytogenet.* 19, 291-289.

BERGER R., BERHEIM A., WEH H-J., FLANDRIN G., DANIEL M.T., BRONET J-C. AND COLLENT N. (1979): A new translocation in Burkitt's tumor cell. *Human. Genet.*53, 111-112.

BERGER R., LE CONIAT M., VECCHIONE D., DERRE J., CHEN S.J. (1990): Cytogenetic studies of 44 T-cell acute lymphoblastic leukemias. *Cancer Genet. Cytogenet.* 44, 69-75.

BJERRUM O.W., PHILLIP P., MULLER-BERAT N., HERTZ H., KILLMANN S.A. (1985):Acute lymphocytic leukaemia with t(4;11): A clinical subentity. *Scand. J. Haematol.* 35, 96-101.

BLOOMFIELD C.D., ARTHUR D.C., FRIZZERA G., LEVINE E.G., PETERSON B.A., and GAJL-PECZALSKA K.J. (1983): nonrandom chromosome abnormalities in lymphoma. *Cancer Res.* 43, 2975-2948.

BLOOMFIELD C.D., BRUNNING R.D., SMITH K.A., Y NESBIT M.E. (1980): Pronostic significance of the Philadelphia chromosome in acute lymphocytic leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.* 4, 111-142.

BLOOMFIELD C.D., PETERSON L.C., YUNIS J.J., BRUNNING R.D. (1977): The Philadelphia chromosome (Ph) in adults presenting with acute leukaemia: a comparison of Ph+ and Ph- patients. *Br. J. Haematol.* 36, 347-358.

BOVERI T. (1914): Zur Frage der Entstehung maligner Tumoren, S.1-64: Gustav Fischer.

BULLERDIEK J., BARTNITZKE S., SCHOOT W. (1983): Cell with Double Minutes Divided into Two Categories. *Cancer Genet. Cytogenet.* 9, 301.

BURK KB., LIU ET., LARRICK J. (1988) : Oncogenes. An introduction to the concept of cancer genes. Springer-Verlag. New-York, Berlin, Heidelberg, London, Paris, Tokyo.

CARBONE P., SANTORO A., GIGLIO M.C., MIRTO S., GRANATA G., BARBATA G. (1992): Cytogenetic findings in secondary acute nonlymphocytic leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.* 58, 18-23.

CAROLL A.J., CASTLEBERRY R.P., CRIST W.M. (1987): Lack of association between abnormalities of the chromosome 9 short arm and either "lymphomatous" features of T cell phenotype in childhood acute lymphocytic leukemia. *Blood* 9, 735-738.

CARRERA C.J., EDDY R.I., SHOWS T.B., CARSON D. (1984): Assignment of the gene for methylthioadenosine phosphorylase to human chromosome 9 by mouse-human somatic cell hybridization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81, 2665-2668.

CASSPERSON T., ZECH L., JOHANSSON C. (1970): Differential banding of alkylating fluorochromes in human chromosomes. *Exp. Cell Res.* 60, 315-319.

CATOUSKY D. (1979): Annotation: Ph positive acute leukemia, one or two diseases?. *Br. J. Haematol.* 42, 493-498.

CLARKSON B., ELLIS S., LITTLE C., GEE T., ARLIN Z., MERTELSMANN R., ANDREEFF M., KEMPIN S., KOZINER B., CHAGANTI R., JHANWAR S., MCKENZIE S., CIRRINCIONE C., GAYNOR J. (1985) Acute lymphoblastic leukemia in adults. *Semin. Oncol.* 12, 160-179.

CHAGANTI R.S.K., JHANWAR S.A., ARLIN Z.A., CLARKSON B.D. (1982): Chronic myelogenous leukemia in an XYY male. *Cancer Genet. Cytogenet.* 18, 295-302.

CHESSSELS J.M., JANOSSY G., LAWLER S.D. Y SECKER-WALKER L.M. (1977): the Philadelphia chromosome in childhood leukemia. *Br.J. Haematol.* 29, 81-91.

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

COOPERMAN B.S., KLINGER H.P. (1981): Double minute chromosomes in a case of acute myelogenous leukemia resistant to chemotherapy. *Cytogenet. Cell Genet* 30, 25-30.

DE LA CHAPELLE A (1982): How do human isochromosomes arise?. *Cancer Genet. Cytogenet.* 5,173-179.

DE TAISNE C., GEGONNE A., STEHELIN D. (1984): Chromosomal localization of the human proto-oncogene c-est. *Nature* 310,581-583.

DE VINUESA M.L., SLAVUTSKY I., LARRIPA I. (1987): Presence of isochromosomes in hematologic diseases. *Cancer Genet. Cytogenet.* 25,47-54.

DEBRAEKELEER M., LIN C.C. (1986): (4;11) in acute myelogenous leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.* 22,143-148.

DEL POTRO E., DIAZ MEDIAVILLA J., FERRO M.T., JORDA J., ALVAREZ A., VILLEGAS A. ESPINOS D.(1988): Cambio de estirpe celular en recaídas de leucemia aguda linfoide: frecuencia, características morfológicas, fenotípicas, citogenéticas y evolución clínica. *Med. Clin* 90, 106-109.

DEWALD G.W., BRODERICK D.J., TOM W.W., HAGSTROM J.E., PIERRE R.V.: The efficiency of direct, 24-hour culture and mitotic synchronization methods for cytogenetic analysis of bone marrow in neoplastic hematologic disorders. *Cancer Genet. Cytogenet.* 18, 1-10 (1985).

DEWALD G.W., MORRISON-DELAP S.J., SCHUCHARD K.A., SPURBECK J.L. Y PIERRE R.V. (1983): A possible specific chromosome marker for monocytic leukemia: Three more patients with t(9;11)(q23;q24) and another with t(11;17)(q24;q21), each with acute monoblastic leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.* 8, 203-212.

DUBE I.D., GREEMBERG M.L. (1986): Phenotypic heterogeneity in three cases of lymphoid malignancy with chromosomal translocations in 14q11. *Cytogenet. Cell Genet.* 41, 215-218.

DUBE I.D., EL-SOLH H. (1986): An apparent tandem quadruplication of chromosome 21 in a case of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.* 23, 253-256.

DUTRILLAUX B., CROQUETTE M.E., VIEGAS-PEGNIGNOT E., AURIAS A., COGET J., COUTURIER J., LEJEUNE J. (1978): Human somatic chromosome chains and rings: A preliminary note on end-to-end fusions. *Cytogenet. Cell Genet.* 20, 70-77.

ERICKSON J., WILLIAMS D.L., FINAN J., NOWELL P.C., CROCE C.M. (1985): Locus of the alpha-chain of the T-cell receptor is split by chromosome translocation in T-cell leukemias. *Science* 229, 784-786.

ERICSON J., GRIFFIN C.A., AR-RUSHDI A., VALTIERI M., HOXIE J., FINAN J., EMANUEL B.S., ROVERA G., NOWELL P.C., CROCE C.M. (1986): Derregulation of c-myc by translocation of the alpha-locus of the T-cell receptor in T-cell leukemias. *Science* 232, 884-886.

FAN Y-S, ROWE JM., DAL CIN P., AND SANDBERG AA (1988): A translocation t(9;11)(p11;q23) in T-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia (FAB-L2). *Cancer Genet. Cytogenet.* 31, 263-269.

Fanconi Anemia (1989). Schroeder-Kurth TM, Auerbach AD, Obe G. editors. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New-York, London, Paris, Tokyo.

FERRO M.T., DEL POTRO E., KRSNIK I., VILLEGAS A., FERNANDEZ RAÑADA J.M., RESINO M., GARCIA SAGREDO J.M., SAN ROMAN C. (1991): Unusual translocations and other changes in acute leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.* 54, 163-171.

FERRO M.T., SAN ROMAN C., CUZMAN M., LARAÑA J.G., ODRIOZOLA J. (1986): Translocation t(14;22)(q32;q11) : A special variant of the Philadelphia chromosome ?. *Cancer Genet. Cytogenet.* 20, 167-170.

FERRO M.T., SAN ROMAN C., MUÑOZ A., MADERO L., OLMEDA F., FERNANDEZ RAÑADA J.M., MECUCCI C., (1986): Translocation (4;11) in ALL: A new morphological aspect? *Cancer Genet. Cytogenet.* 23, 145-149.

MIC COOPERATIVE STUDY GROUP (1986): Morphologic, immunologic and cytogenetic (MIC) working classification of acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.* 23, 189-197.

FITZGERALD P.H., GILES L.M., MORRIS C.M., HEATON D.C., BEARD M.E.J. (1982): Cytogenetic studies of acute promyelocytic leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.* 7, 299-305.

FLEISCHMAN E.W, PRIGOGINA E.L. (1977): Karyotype peculiarities of malignant lymphomas. *Hum. Genet.* 35, 269-279.

FOURTH INTERNATIONAL WORKSHOP ON CHROMOSOMES IN LEUKEMIA 1982(1984): Rearrangements of 11q. Cancer Genet. Cytogenet. 11, 294-295.

GARCIA-SAGREDO J.M., SAN ROMAN C., GALLEGO GOMEZ ME., LLEDO G.(1983): Fragile chromosome 16(q22) cause a balanced translocation at the same point. Hum.Genet. 65, 211-213.

Genetic Rearrangements in Leukemia and Lymphoma (1986) Edit. Golman JM, Harden DG. Churchill Livingstone. Edinburgh London Melbourne and New York.

GERMAN, J. (1974): Chromosomes and Cancer, New York, London, Sydney, Toronto: Wiley.

GIBBS T.J., WHEELERM V., BELLINGHAN A.J., WALKER S.(1977):The significance of the Philadelphia chromosome in acute lymphoblastic leukaemia: a report of two cases. Br. J. Haematol. 37, 447-453.

GODDE-SALZ E.(1986): Cytogenetic Markers in Allogeneic Bone Marrow Transplantation. Cancer Genet. Cytogenet. 20, 293-299.

HAGEMEIJER A., HÄHLEN K., SIZOO W., ABELS J. (1982): Translocation (9;11)(p21;q23) in three cases of acute monoblastic leukemia. Cancer Genet. Cytogenet. 5, 95-105.

HALL A.(1987): Oncogenes. in Concepts and Theories in Carcinogenesis, Proceedings of the 4th Symposium of the European Organization for Cooperation in Cancer Prevention Studies, P., Maskens, P. Ebbesen, A. Burny eds. Excerpta Médica, Amsterdam, pp 87-92.

HARTLEY S.E., TOOLIS F. (1980): Double Minute Chromosomes in a Case of Acute Myeloblastic Leukemia. Cancer Genet. Cytogenet. 2, 275-280.

HAYATA Y., SAKURAI M., KAKATI S., SANDBERG A.A., (1975.) Banding studies of chronic myelocytic leukemia, including five unusual Ph translocations. Cancer 36, 1177-1191.

HECHT F., HECHT B.K. (1986): Chromosome 9 in acute lymphoblastic leukemia: breaks in band 9 p21-22 and fragile site. Cancer Genet. Cytogenet. 21, 1-3.

HECHT F, MCCAW NK. (1977) : Chromosome Instability Syndromes. Genetics of Human Cancer. Progress in Cancer Research and Therapy. 3, 105-125.

HECHT F., MORGAN R., HECHT B.K. (1988): Robertsonian chromosome recombinants are rare in cancer. Cancer Genet. Cytogenet. 35, 79-82.

- HEEREMA N.A., PALMER C.G., BAEHNER R.L.(1985): Karyotypic and clinical finding in a consecutive series of children with acute lymphocytis leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.* 17, 165-179.
- HEIM S., MITELMAN F.(1986): Secondary chromosome aberrations in the acute leukemias. *Cancer Genet. Cytogenet.* 22, 331-338.
- HEIM S., MITELMAN F. (1987): *Cancer Cytogenetics.* Alan R. Liss, New York, 201-225.
- HEIM S., MITELMAN F.(1987) : Nineteen of 26 cellular oncogenes precisely localized in the human genome map to one of the 83 bands involved in primary cancer-specific rearrangements. *Hum. Genet.* 75, 70-72.
- HORSMAN D.E. AND KALOUSEK D.K. (1990): Acquired Robertsonian Translocations in hematologic malignancy. A rare mechanism of clonal evolution. *Cancer Genet. Cytogenet.*45, 193-196.
- HUNGERFORD D.A. (1965): Leucocytes cultured from small inocula of whole blood and the preparation of metaphase chromosomes by treatment with hypotonic KCL. *S.T.* 40, 333-338.
- ISNC (1978): An International system for human cytogenetic nomenclature. *Cytogenet Cell. Genet.* 21, 309-404.
- IURLO A., MECUCCI C., VAN ORSHOVEN A., MICHAUX J.L., BOOGAERTS M., NOENS L., BOSLY A., LOUWAGIE A., VAN DEN BERGHE H (1989): Cytogenetic and clinical investigations in 76 cases with therapy-related leukemia and myelodysplastic syndrome. *Cancer Genet. Cytogenet.* 43, 227-241.
- JACKSON J.F., PULLEN J., WILLIAMS D.L., BOWMAN P., ROPER M., CARROLL A.J., VOGLER L., CRIST W.M., STARLING K.,VAN EYS J. (1982): Cytogenetics of B-cell lineage acute lymphocytic leukaemias in childhood. *Lancet* ii, 1334-1335.
- JHANWAR S.C., NEEL B.G., HAYWARD W.S., CHAGANTI R.S.K.(1983): localization of c-ras oncogene family on human germ-line chromosomes. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 80, 4794-4797.
- JOHNSON D.D., DEWALD D., PIERRE R.V., LETENDRE L., SILVERSTEIN M.N. (1985): Deletions of Chromosome 13 in Malignant Hematologic Disorders. *cancer genet Cytogenet* 18, 235-241.
- KANEKO Y., LARSON R.A., VARIAKOJIS D., HAREN J.M., ROWLEY J.D. (1982): Nonrandom chromosome abnormalities in angioimmunoblastic lymphadenopathy. *Blood* 60, 877-887.

- KANEKO Y., MASEKI N., HOMMA C., SAKURAI M., MIZUTANI S., TAKEDA T., SHIKANO T., FUJIMOTO T., YAOI K., SHIMOKAWA T. (1988): Chromosome translocations involving band 7q35 or 7p15 in childhood T-cell leukemia/lymphoma. *Blood* 72, 534-538.
- KANEKO Y., MASEKI N., TAKASEKI (1986): Clinical and hematologic characteristics in acute leukemia with 11q23 translocation. *Blood* 67, 484-491.
- KANEKO Y., ROWLEY, J.D., CHECK I., VARIAKOJIS D., MOORH, J.W. (1980): The 14q+ chromosome in pre-B ALL. *Blood* 56, 782-785.
- KNNUTILA S., VUOPIO P., BORGTROM G.H., DE LA CHAPELLE A. (1980): Higher frequency of 5q- clone in bone marrow mitosis after culture than by a direct method. *Scand. J. Haematol.* 25, 358-362.
- KNUDSON A.G., STRONG L.C. (1972): The genetics of childhood cancer. *Cancer* 35, 1022-1026.
- KNUDSON A.G., STRONG L.C., ANDERSON D.E. (1973): Heredity and cancer in man. *Prog. Med. Genet.* 9, 113-158.
- KNUDSON A. G. (1977): Mutation and cancer in man. *Cancer* 39, 1882- 1886.
- KOCOVA M., KOWALCZYK J.R., SANDBERG A.A. (1985): Translocation 4;11 acute leukemia: Three case reports and review of the literature. *Cancer Genet. Cytogenet.* 16:21-32.
- KOVACS G. (1985): Proposed designation of Homogeneously staining Regions in the Human Karyotype. *Cancer Genet. Cytogenet.* 18, 353-354.
- KOWALCZYK J. AND SANDBERG A.A. (1983): A possible subgroup of ALL with 9p-. *Cancer Genet. Cytogenet.* 9, 383-385.
- KRIZMAN D.B., PATHAK S., CAILLEAU R. (1985): double Minutes in the HeLa cell Line. *Cancer Genet. Cytogenet.* 18, 43-47.
- LAI J.L., FENAUX P., POLLET J.P., ESTIENNE M.H., SAVARY J.B., HUART J.J., DEMINATTI A.N. (1988): Acute Lymphocytic Leukemia with 9p Anomalies. A report of Four Additional Cases and Review of the Literature. *Cancer Genet. Cytogenet.* 33, 99-109.
- LAWLER S.D., SUMMERSGILL B., CLINK H.M., MC ELWAIN T.J. (1980): Cytogenetic follow-up study of acute non-lymphocytic leukemia. *Br. J. Haematol.* 44, 395-405.

- LE BEAU M.M. (1986): 7th International Congress of Human Genetics. Berlin.
- LEROUX D., H. JALBERT, J. BAR, AND M. MONTEIL. (1988): Translocation (4;11) in a case of malignant lymphoma. *Cancer Genet. Cytogenet.* 36, 159-163.
- LEVAN A., LEVAN G., MITELMAN F., (1977): Chromosomes and Cancer. *Hereditas* 86, 15-30.
- LEWIS W.H., MICHALOPOULUS E.E., WILLIAMS D.L., MINDEN M.D., MAK T.W. (1985): Breakpoints in the human T-cell antigen receptor alpha-chain locus in two T-cell leukaemia patients with chromosomal translocations. *Nature* 317, 544-546.
- LI Y.S. (1983): Double minutes in acute myeloid leukemia. *Intl. J. Cancer* 32, 455-459.
- LENNERT K., STEIN H., KAISERLING E. (1974): New criteria for the classification of malignant lymphomas. In: Present problems in haematology. eds. J. Libansky, L. Donner. Amsterdam, Excerpta medica.
- LUKES R. J., COLLINS R.D. (1974): A functional approach to the classification of malignant lymphoma. Recent results. *Cancer Res.* 46, 18-30.
- MANOLOV G., MANOLOVA Y. (1972): Marker band in one chromosome 14 from Burkitt lymphomas. *Nature* 237, 33-34.
- MANOLOVA, Y., MANOLOV, G., KIELER, J., LEVAN, A. AND KLEIN, G. (1979): genesis of the 14q+ marker in Burkitt's lymphoma. *Hereditas* 90, 5-10.
- MARK J. (1970): Chromosomal patterns in human meningiomas. *Eur. J. Cancer* 6, 489-498.
- MASEKI N., HAYASHI 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.
- MAYAL B H; CARRANO A V, MOORE D H, AND ROWLEY J.D. (1977): Quantification by DNA-based cytophotometry of the 9q+/22q chromosomal translocation associated with chronic myeloid leukemia. *Cancer Research* 37, 3590-3593.
- MECUCCI C., MICHAUX J.-L., TRICOT G., LOUWAGIE A. AND VAN DEN BERGHE H. (1985): Rearrangements of the short arm of chromosome No. 6 in T-cell lymphomas. *Leukemia Res.* 9, 1139-1148.

MIRRO J., KITCHINGMAN G., WILLIAMS D., LAUZON G.J., LIN C.C., CALLIHGAN T., ZIPF T.F. (1986): clinical and laboratory characteristics of acute leukemia with the 4;11 translocation. *Blood* 67, 689-697.

MITELMAN F. (1984): Restricted number of chromosomal regions implicated in aetiology of human cancer and leukaemia. *Nature* 310, 325-327.

MITELMAN F. (1985): Catalog of chromosome aberrations in cancer, 2nd edition. Alan R. Liss Inc. New York.

MITELMAN F. (1986), Clustering of breakpoints to specific chromosomal regions in human neoplasia. A survey of 5.345 cases. *Hereditas* 104, 113-119.

MITELMAN F. (1991) : Catalog of chromosome aberrations in cancer, 4th edition. Alan R. Liss Inc. New York.

MITELMAN F., LEVAN G. (1981): Clustering of aberrations to specific chromosomes in human neoplasms. IV. A survey of 1871 cases. *Hereditas* 95, 79-139.

MIYOSHI, I., HIRAKI, S., KIMURA, I., MIYAMOTO, K., AND SATO, J. (1979): 2/8 translocation in a Japanese Burkitt's lymphoma. *Experientia* 35, 742-743

MOORHEAD P.S., NOWELL P.C., MELLMAN W.J., BATTIPS D.M., HUNGERFORD D.A. (1960): Chromosome preparations of leukocytes culture from human peripheral blood. *Exptl. Cell Res.* 20, 613-616.

MORGAN R., SANDBERG A.A., JARZABEK V., SCHEERER P., HECHT F. (1987): An acquired Robertsonian translocation in prolymphocytic leukemia: A case presentation and review. *Cancer Genet. Cytogenet.* 25, 293-301.

MORSE H.G., ODOM L.F., TUBERGEN D., HAYS T., BLAKE M., ROBINSON A. (1983): Prognosis in acute lymphoblastic leukemia of childhood as determined by cytogenetic studies at diagnosis. *Med. Pediatr. Oncol.* 11, 310-318.

NOWELL P.C. (1976): The clonal evolution of tumor cell populations. *Science* 194, 23-28.

NAGAKASAKA M., MAEDA S., MAEDA H., CHEN H-L., KITA K., MABUCHI O., MISU H., MATSUO T., SUGIYAMA T. (1983): Four cases of t(4;11) acute leukemia and its myelomonocytic nature in infants. *Blood* 61, 1174-1181.

NOWELL P.C. HUNGERFORD D.A. (1960): A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia. *Science* 132, 1497.

NOWELL P.C.(1986): Perspectives in cancer research, mechanism of tumor progression. *Cancer Res.* 46, 2203-2207.

O'BRIEN S.J., NASH W.G., GOODWIN J.L., LOWY D.R., CHANG E.H. (1983): Dispersion of the ras family of transforming genes to four different chromosomes in man. *Nature* 302, 839-842.

O'RIORDAN M.L., BERRY E.W., TOUGH I.M. (1970): Chromosome studies on bone marrow from a male control population. *Br.J.Haematol.* 19, 83-90.

O'RIORDAN M.L., ROBINSON J.A., BUCKTON K.E., EVANS H.J. (1971): Distinguishing between the chromosomes involved in Down's syndrome (trisomy 21) and chronic myeloid leukaemia (Ph1) by fluorescencia. *Nature* 230, 167-168.

OHYASHIKI J.H., OHYASHIKI K., IWABUCHI H., LIN K-Y, TOYAMA K. (1987): Acute myelomonocytic leukemia with inv.(16)(p13q22) in an XY/XYY male. *Cancer Genet. Cytogenet.* 29, 331-332.

OHYSAHIKI J.H., OHYSAHIKI K., MILLER K.B., CUIFFO B.P. Y SANDBERG A.A. (1987): Acute Myelomonocytic Leukemia with Double Minute Chromosomes and a normal Karyotype. *Cancer Genet. Cytogenet.* 25, 1-6.

OHYASHIKI K., OSHIMURA M., TOYODA T., SAKAI N., ITO H., YAMAMOTO K., TONOMURA A. (1984): Chronic myelogenous leukemia with a complex Ph-translocation in an XYY male. *Cancer Genet. Cytogenet.* 11, 215-219.

PANANI A., FERTI- PASSANTONOPOULOU A., DARVENOULAS J., Partial duplication of 1q in a malignant lymphoma. *Cancer Genet. Cytogenet.* 1984, 1187-90.

PARIS CONFERENCE 1971 (1972): Standardization in human cytogenetics. *Birth Defeccts: Original Article Series.* Science 132, 1497.

PARKIN, J.L., ARTHUR, D.C., ABRAMSON, C.S., MCKENNA, R.W., KERSEY, J.H., HEIDEMAN, R.L. AND BRUNNING, R.D. (1982): Acute leukemia associated with the t(4;11) chromosome rearrangements: Ultrastructural and immunologic characteristics. *Blood* 60, 1321-1331.

PIERRE R.V., HOAGLAND H.C.(1972): Age-associated aneuploidy: loss of Y chromosome from human bone marrow cells with ageing: *Cancer* 30, 889-894.

PRIETO F., EGOZCUE J., FORTEZA G., MARCO F. (1970): Identification of the Philadelphia (Ph) chromosome. *Blood* 35, 23-38.

PROP S.,LIZZI F.A.(1970): Philadelphia chromosome in acute lymphocytic leukemia. Blood 36, 353-360.

RAIMONDI S.C., WILLIAMS D.L., CALLIHAN T., PEIPER S., RIVERA G.K., MURPHY S.B.(1986): Nonrandom involvement of the 12p12 breakpoint in chromosome abnormalities of childhood acute lymphoblastic leukemia. Blood 68, 69-75.

RAYNAUD S.D.,PHILIP P.J.M.,AYRAUD N., BAYLE J., FUZIBET J.G.(1988): Translocation t(4;11) and Morphologically Burkitt-like Blasts. Cancer Genet. Cytogenet. 4, 89-90.

RAPPAPORT H. (1966): Tumors of the hematopoietic system. In: Atlas of tumor pathology, Armed Forces Institute of pathology, Washington, D.C.

RIEDER H. FONATH CH. (1991): Abnormalities of the short arm of chromosome 9. A nonrandom secondary aberration in Philadelphia chromosome positive acute lymphoblastic leukemia (ALL). Cancer Genet. Cytogenet. 53, 139-142.

ROGERS P.C.J., THOMAS J.W., KALOUSEK D.K., BAKER M.A., DENEGRI J.F. (1983): Neonate with Down's syndrome and transient congenital leukemia. In vitro studies. Am. J. Pediatr. Hematol. Oncol. 5, 59-64.

ROWLEY J.D. (1973): Identification of translocation with quinacrine fluorescence in a patient with acute leukemia. Annales de Genetique (Paris). 16, 109-112.

ROWLEY J.D. (1980): Ph positive leukemia, including chronic myelogenous leukemia. Clinics in Haematology 9, 55-86.

ROWLEY J.D. (1981): Down syndrome and acute leukemia: Increased risk may be due to trisomy 21. Lancet ii, 1020-1022.

ROWLEY J.D. (1984): The biological implications of consistent chromosomes rearrangements. Cancer Research 44, 3159-3168.

ROWLEY J.D., TESTA J.R. (1982): Chromosome abnormalities in malignant hematologic diseases. Adv. Cancer Res. 36, 103-148.

RUDDUCK C., LUKEIS R.E., Mc ROBERT, CHOW C.W., GARSON O.M. (1992): chromosomal localization of amplified N-myc in neuroblastoma cells using a biotinylated probe. Cancer Genet. Cytogenet. 58, 55-59.

SACCHI N., WATSON D.K., GEURTS VAN KESSEL A.H.M., HAGEMEIJER A., KERSEY J., DRABKIN H.D., PATTERSON D. AND PAPAS T.S. (1986): Hu-ets-1 and hu-st-2 genes are transposed in acute leukemias with (4;11) and (8;21) translocations. Science 231, 379-382.

SADAMORI N., HAN T., KAKATI S., SANDBERG A.A. (1983): Chromosomes and causation of human cancer and leukemia. LI. A hairy cell leukemia case with 14q+ and ring chromosomes: significance of rings chromosomes in blood disorders. Cancer Genet. Cytogenet. 10, 67-77.

SAGUCHI A.Y., NAYLOR S.L., SHWOS T.B., TOOLE J.J., MC COY M., WEIMBERG R.A. (1983): Human c-ki-ras 2 proto oncogene on chromosome 12. Science 219, 1081-1082.

SAN ROMAN C., FERRO M.T., GUZMAN M. AND ODRIOZOLA J. (1985): Clonal abnormalities in patients with Waldenström's macroglobulinemia with special reference to a Burkitt-type t(8;14). Cancer Genet. Cytogenet. 18, 155-158.

SAN ROMAN C., FERRO M.T., RESINO M., GARCIA SAGREDO J.M., DEL POTRO E., VILLEGAS A. (1990): Fragile chromosome 16, familial and neoplastic pathology. Clinical Genetics 37, 393.

SANDBERG A.A. (1980): The chromosomes in human cancer and leukemia. Elsevier, New York, Amsterdam.

SANDBERG A.A. (1983): A chromosomal hypothesis of oncogenesis. Cancer Genet. Cytogenet. 8, 277-285.

SANDBERG AA (1986): The chromosomes in human leukemia. Semin. Hematol. 23, 201-217.

SANDBERG A.A. (1990): the chromosomes in human cancer and leukemia. 2nd edition. Elsevier, New York, Amsterdam, Oxford.

SANDBERG A.A., KOHNO S., WAKE N., MINOWADA J. (1980): Chromosomes and causation of human cancer and leukemia. XLII. Ph positive ALL. An entity within myeloproliferative disorders?. Cancer Genet. Cytogenet. 2, 145-174.

SANDBERG A.A., MORGAN S.S., MORGAN R. AND BOROS L. (1988): Trisomy 5 as Sole Anomaly in Acute Lymphoblastic Leukemia. Cancer Genet. Cytogenet. 36, 31-34.

SANDBERG AA, MORGAN R, KIPPS TJ, HECHT F (1985): The Philadelphia (Ph) chromosome in leukemia. II. Variant Ph translocation in acute lymphoblastic leukemia. Cancer Genet. Cytogenet. 14, 11-21.

SANTORO A., MAGGIO A., CARBONE P., MIRTO S., CARONIA F. ACUTO S. (1992): Amplification of ETS 2 oncogene in acute nonlymphoblastic leukemia with t(6;21:18). Cancer Genet. Cytogenet. 58, 71-75.

SARKS R.S. (1981): Cytogenetic Analysis in Human Bone Marrow Trasplantation. Cancer Genet. Cytogenet. 9, 119-128.

SCHWAB M., VARMUS H.E., BISHOP H.J., GRZESCHIK K.H., NAYLOR S.L., SAKAGUCHI A.Y., BRODEUR G., TRENT J. (1984): Chromosome localization in normal human cells and neuroblastomas of a gene related to c-myc. Nature 308, 288-291.

SECKER-WALKER M.L. (1971): The chromosomes of haematologically normal men and women. Br. J. Haematol. 21, 455-461.

SECKER-WALKER L.M., SWANSBURY G.J., HARDISTY R.M., SALLAN S.E., GARSON O.M., SAKURAI M., LAWLER S.D., (1982): Cytogenetics of acute lymphoblastic leukaemia in children as a factor in the prediction of long-term survival. Br. J. Haematol. 52, 398-399.

SETH A., WATSON J.K., BLAER D.G., PAPAS T.S. (1989): c-est-2 protooncogene has mutagenic and oncogenic activity. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 7833-7837.

SHEER D. (1991) : Chromosomes and cancer. Introduction to the Cellular & Molecular Biology of Cancer. Oxford University Press, 2nd edition. Franks LM and Teich NM editors. Oxford, New-York, Tokyo. pp 269-296.

SIKANO G.S., TAYSI K., STRANDJORD S.E., GRIFFITH R., VIETTI T.J. (1980): Trisomy 21 in bone marrow cells of a patient with a prolonged preleukemic phase. Med. Pediat. Oncol. 8, 237-242.

SIMON J.H., TEBBI C.K., FREEMAN A.I., BRECHER M.L., GREEN D.M., SANDBERG A.A. (1987): Acute magacaryoblastic leukemia associated with mosaic Down's syndrome. Cancer 60, 2515-2520.

SLAVUTSKY Y., LABAL DE VINUESA M., MONDINI N. BRIEUX DE SALUM S. (1981): Abnormalities of chromosome 1: two cases with lymphocytic lymphomas. Cancer Genet. Cytogenet. 3, 341-346.

SOLOMON E, BORROW J, GODDARD AD. (1991) : Chromosome aberrations and cancer. Science 254, 1153-1160.

STELMACH T., NOWELL P.C. (1987): Two cases of myelodysplastic syndrome with both t(5;29) and 17p+ translocations. Cancer Genet. Cytogenet. 24, 191-204.

STONG, R.C., KORSMEYER, S.J., PARKIN, J.L., ARTHUR, D.C. AND KERSEY J.H. (1985): Human acute leukemia cell line with the t(4;11) chromosomal rearrangement exhibits B lineage and monocytic characteristics. Blood 65, 21-31.

SUMER A.T. (1972): A simple technique for demonstrating centric heterochromatin. Experimental Cell Research 75, 304-306.

TAKEDA T., TAKAGI A., ZAIKE Y., HIRAI M., KAWAKAMI M., MORI M., OHYASHIKI K., AND IKEUCHI T. (1988): B-cell Lineage Acute Lymphoblastic Leukemia with i(7q) and t(9;9)(p22;p24). Cancer Genet. Cytogenet. 30, 295-299.

TEIC NM. (1991) : Oncogenes and cancer. Introduction to the Cellular & Molecular Biology of Cancer. Oxford University Press, 2nd edition. Franks LM and Teich NM editors. Oxford, New-York, Tokyo. pp 230-269.

TESTA J.R., MINZ V., ROWLEY J.D., VARDIMAN J.W., GOLOMB H.M. (1979): Evolution of karyotypes in acute nonlymphocytic leukemia. Cancer Res. 39, 3619-3627.

TESTA J.R., OGUMA N., MISAWA S., WIERNIK P. (1983): Chromosome Abnormalities in Acute Leukemia. A higher incidence than previously assumed. Cancer Genet Cytogenet 9, 305-306.

THIRD INTERNATIONAL WORKSHOP ON CHROMOSOMES IN LEUKEMIA, 1980 (1981): Chromosomal Abnormalities in Acute Lymphoblastic Leukemia: Structural and Numerical Changes in 234 cases. Cancer Genet. Cytogenet.4, 101-110

TJIO, J.H., LEVAN, A. (1956): The chromosome number of man. Hereditas 42, 1-6.

TRENT J.M., BUIK R.N., OLSON S., HORUS R.C., SCHIMKE R.T. (1984): Cytologic evidence for gene amplification in methotexate-resistant cells obtained from a patient with ovarian adenocarcinoma. J. Clin. Oncol. 2, 8-15.

TSUJIMOTO Y., FIENGER L.R., YUNIS J., NOWELL P.C. AND CROCE C.M. (1984): Cloning of the chromosome break point of neoplastic B cells with the t(14;18) chromosome translocation. Science 226, 1097-1099.

TSUJIMOTO Y., JAFFE E., COSSMAN J., GORHAM J., NOWELL P.C. AND CROCE C.M. (1985): Clustering of breakpoint of neoplastic B cells with the t(11;14) chromosome translocation. Nature 315, 340-343.

- UCKUN F.M., GAJL-PECZALSKA K.J., PROVVISOR A.J., HEEREMA N.A. (1989): Immunophenotypekaryotype associations in human acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 73, 271-280.
- VAN DEN BERGHE H., DAVID G., BROECKAERT-VAN ORSHOVEN A., LOUWAGIE A., VERWILGHEN R., CASTEELS-VAN DAELE M., EGGERMONT E., ECKELS R. (1979): A new chromosome anomaly in acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Hum. Genet.* 46, 173-180.
- VAN DEN BERGHE H., PARLOIR C., GOSSEYE S., ENGLEBIENNE V., CORNU G. AND SOKAL G. (1979): Variant translocation in Burkitt lymphoma. *Cancer Genet. Cytogenet.* 1, 9-14.
- VAN DEN BERGHE H., VERMAELEN K., ORSHOVEN A. B-Y, DELBEKE M-J., BENOIT Y., ORYE E., VAN EYGEN M., LOGGHE N. (1983): Pentasomy 21 characterizing spontaneously regressing congenital acute leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.* 9, 19-24.
- VON HASEMAN D. (1890): Über asymmetrische Zellteilungen in Epithelkrbsen und deren biologische Bedeutung. *Arch. Pathol. Anat. Physiol.* 119, 299-326.
- WATSON D.K., MCWILLIAMS-SMITH M.J., KOZAK C., REEVES R, GEARHART J, NUNN MF, DUESBERG PH, O'BRIEN SJ, PAPAS TS, (1985): The est sequence for the transforming gene of avian erythroblastosis virus, E26, has unique domains on human chromosomes 11 and 21: both loci are transcriptionally active. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 82, 7294-7298.
- WEH H.J., HOSSFELD D.H. (1986): 12p- Chromosome in patients with acute myelocytic leukemia or myelodysplastic syndromes following exposure to mutagenic agents. *Cancer Genet. Cytogenet.* 19, 355-356.
- WEH H.J., VON PALESKE A., HOSSFELD D.K. (1983): Disappearance of hypotetraploid clones after short term culture of leukemic cells. A case report. *Cancer Genet. Cytogenet.* 10, 237-240.
- WEH H.J., ZSCHABER R. HOSSFELD D.K. (1982): Double minute chromosomes: A frequent marker in leukemic patients with a previous history of malignant disease?. *Cancer Genet. Cytogenet.* 5, 279-280.
- WERNER-FAURE C.H., BERIS P., PIQUET D., ENGEL E. (1986): Ring chromosomes and hematologic disorders. *Cancer Genet. Cytogenet.* 23, 265-267.
- WILLIAMS D.L., TSIATIS A., BRODUER G.M., LOOK A.T., MELVIN S.L., BOWMAN W.P., KALWINSKY D.K., RIVERA G., DAHL G.V. (1982): Prognostic importance of chromosome number in 136 untreated children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 60, 864-871.

WILMOTH D., FEDER M., FINAN J., NOWELL P. (1985): preleukemia and leukemia with 12p- and 19q+ chromosome alterations following alkeran therapy. *Cancer Genet. Cytogenet.* 15, 95-98.

YUNIS JJ (1976): High resolution of human chromosomes. *Science* 221, 227-236.

YUNIS J.J. (1983): The chromosomal basis of human neoplasia. *Science* 221, 227-236.

YUNIS J.J. (1984): Fragile sites and predisposition to leukaemia and lymphoma. *Cancer Genet. Cytogenet.* 12, 85-88.

YUNIS J.J., SORENG A.L. (1984): Constitutive fragile sites and cancer. *Science* 226, 1199-1204.

ZACCARIA A., ROSTI G., TESTONI N., TURA S.(1985): Chromosome 12 rearrangements with breakage at the p11 level in hematologic disorders: Report of four cases. *Cancer Genet. Cytogenet.* 15,309-314.

ZACCARIA A., ROSTI G, TESTONI N. et al.(1987): Chromosome studies in patients with acute nonlymphocytic or acute lymphocytic leukemia submitted to bone marrow transplantation- results of a european cooperative study. *Cancer Genet Cytogenet* 26, 51-58.

ZANG , K.D., SINGER, H. (1967): Chromosomal constitution of meningiomas. *Nature* 216, 84-85.

ZECH,L., HAGLUND, U., NILSSON, K. AND KLEIN, G.(1976): Characteristic chromosomal abnormalities in biopsies and lymphoid-cell lines from patients with Burkitt and non-Burkitt lymphomas. *Int.J. Cancer* 17, 47-56.