

ARTÍCULO BREVE

Estudios citogenéticos en niños con Leucemia Linfocítica Aguda-B en Costa Rica

Patricia Venegas & Julio Rivera

Servicio de Genética y Citogenética. Laboratorio Clínico, Hospital Nacional de Niños, Caja Costarricense del Seguro Social, San José, Costa Rica; pvenegas@hnn.sa.cr

Recibido 02-XI-2003. Corregido 13-VIII-2004. Aceptado 17-VIII-2004.

Abstract: Cytogenetic studies in children with Acute Lymphocytic Leukemia-B in Costa Rica. Chromosome analyses were performed on bone marrow of 177 pediatric patients with Acute Lymphocytic Leukemia at the "Hospital Nacional de Niños". The standard cytogenetic techniques now belongs to the panel of mandatory analyses performed at diagnosis of our acute leukemia patients and represent a major advantage to be effective and independent prognostic factors, essential for therapeutic choices. Cytogenetic results were achieved in 83% of the bone marrow samples: normal karyotypes represented 29% and abnormal karyotypes 71% with the follow distribution: t(9;22) 3%; t(1;19) 5%; t(4;11) 3%, Hyperdiploidy 39%; other chromosomal abnormalities 21%. Systematic cytogenetic analyses are essential to define morpho-immunologic sub-types of leukemia and to detect new translocations that allows to understand hematopoiesis and leukemogenesis. Rev. Biol. Trop. 52(3): 551-558. Epub 2004 Dic 15.

Key words: Acute Lymphocytic leukemia, cytogenetics, chromosomal abnormalities, prognostic factors, Costa Rica.

Palabras clave: Leucemia Linfocítica Aguda, citogenética, aberraciones cromosómicas, factores pronósticos, Costa Rica.

La leucemia es el cáncer más común en la niñez y se presenta como una proliferación clonal en las células hematopoyéticas transformadas por un cambio genético (Ma *et al.* 1999). Los avances en las técnicas del bandeo cromosómico y en los métodos de cultivos permitieron el desarrollo de la citogenética convencional y nos ha permitido empezar a comprender la biología en los cambios cromosómicos de la leucemia en niños (Puig *et al.* 1990).

Los oncogenes leucémicos fueron descubiertos con la aplicación de retrovirus para inducir leucemia experimental en animales. Estos genes localizados en ciertas regiones del rearrreglo cromosómico en el cáncer humano fueron involucrados en la patogénesis de las enfermedades humanas, oncogenes tales como el *MYC* en Linfoma de Burkitt y el *ABL* en la Leucemia Mieloide Crónica. Las translocaciones e

inversiones cromosómicas son las aberraciones cromosómicas descritas en leucemia humana y la clonación en sus "puntos de fractura" han permitido identificar más de 100 oncogenes, donde su producto oncogénico alterará el programa normal en la proliferación, diferenciación y supervivencia de las células. Además de los rearrreglos cromosómicos también pueden ocurrir mutaciones puntuales que afectan los factores de transcripción como C/EBP alpha, GATA1 y AML1 o afectar receptores de tirosina quinasas como el FLT3 y el c-KIT (Gisselbrecht 2003).

El avance de las técnicas moleculares ubica a la citogenética convencional como un requisito esencial en el manejo del paciente leucémico. El análisis de los cromosomas en metafase de la médula ósea permite visualizar en forma global el genoma entero, detectar las

aberraciones cromosómicas y ubicar los genes involucrados en el proceso leucémico.

Los criterios citogenéticos para definir la presencia de un clon leucémico en médula ósea son los siguientes: encontrar 2 metafases con la ganancia del mismo cromosoma, 2 metafases con la misma aberración y 3 metafases con la pérdida del mismo cromosoma (ISCN 1995). El cariotipo provee valiosa información aunque muchas veces es difícil definir la aberración presente por múltiples razones, como la presencia de una anomalía compleja, presencia de diferentes clones leucémicos, bajo índice mitótico o pobre morfología que acompaña a los cromosomas en el momento del análisis.

La introducción de la citogenética molecular ha permitido detectar desbalances genómicos en el cáncer por medio de la visualización de cromosomas multicolores, gracias a la técnica conocida como FISH (*Fluorescence in situ Hybridization*). Esta técnica se ha convertido en el puente entre la citogenética convencional y la genética molecular y ha contribuido en forma importante a solventar los problemas -anteriormente mencionados- en el estudio del cariotipo de las células cancerosas (Patel *et al.* 2000), logrando aumentar su precisión para detectar e identificar las nuevas aberraciones cromosómicas (Lu *et al.* 2002, Mathew *et al.* 2001, Harrison 2001, Jarosova *et al.* 2000, Nordgren *et al.* 2002, Zemanova *et al.* 2001). De modo que, la citogenética molecular debe ser parte integral en los laboratorios de citogenética porque permite hacer un análisis más fino de las aberraciones, por su alta sensibilidad y especificidad.

Existen diferencias significativas en las tasas de supervivencia de pacientes con leucemia de acuerdo al grupo étnico al que pertenece el paciente. Los análisis multivariados concluyeron que el mejor grupo de recuperación es el asiático al compararse con los grupos de origen europeo, hispano y africano. La farmacogenética tendrá un papel importante para dilucidar las causas de estas diferencias (Bathia *et al.* 2002).

La incidencia histórica de la leucemia infantil en Costa Rica ha variado de 2.5 a 4.1 casos por cada 100 000 habitantes, conforme han

mejorado los esfuerzos y técnicas diagnósticas (Jiménez 2004). Algunos ejemplos de los estudios citogenéticos de leucemias en Costa Rica son las publicaciones de Castro Volio *et al.* (1993, 2004), Solís *et al.* (2000), y Venegas (2001a, b).

En general, el 78% de las leucemias corresponde al tipo de Leucemia Linfocítica Aguda (LLA) (Smith *et al.* 1999). De las leucemias agudas en nuestra población pediátrica, la Leucemia Aguda corresponde al 98% siendo la LLA un 70% (Solís *et al.* 2000).

Hoy en día la célula leucémica (blasto) se clasifica de acuerdo a los siguientes parámetros: morfología, histoquímica, inmunofenotipo, genética molecular, citogenética molecular y citogenética convencional. El análisis convencional de los blastos con LLA-B, que es el tema de interés en este artículo, a llevado al reconocimiento de aberraciones cromosómicas específicas en las leucemias ya sea en su número o en su estructura, sea translocaciones, deleciones o inversiones (Martín Ramos *et al.* 2001).

El análisis citogenético clásico juega un papel importante en el diagnóstico, clasificación, pronóstico y monitoreo de la terapia en pacientes con leucemia. Ciertos cariotipos son asociados a buen pronóstico mientras que otros indican un mal pronóstico lo que conduce a la administración de terapias alternativas (Alter *et al.* 2000, Martín Ramos *et al.* 2001, Harrison 2001, Nordgren 2002, Zemanova *et al.* 2001, Hyakuna *et al.* 2000). Así, muchas aberraciones cromosómicas recurrentes tienen alto valor pronóstico en las LLA-B, como son las hiperdiploides y/o t(12;21) asociadas con muy buenos pronósticos, mientras que t(9,22) y/o rearrreglos del MLL correlacionan con pobre recuperación de la enfermedad, por lo que detectar pronto su presencia es sumamente importante (Zemanova *et al.* 2001).

Se ha determinado que la frecuencia de las aberraciones cromosómicas en estas leucemias difieren entre los laboratorios de citogenética, entre países y regiones geográficas (Forestier *et al.* 2000). En promedio se ha informado que el ámbito de frecuencias de las aberraciones en LLA-B está entre 51% y 90% (Rubin y Le Beau 1991).

En este trabajo presentamos nuestra experiencia en el análisis de las aberraciones cromosómicas de impacto pronóstico en niños con Leucemia Linfocítica Aguda-B.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los cariotipos se llevaron a cabo en el Laboratorio de Citogenética del Hospital Nacional de Niños, según el Manual y Protocolos de Procedimientos de dicho laboratorio. Se recibieron 177 muestras de médula ósea de niños diagnosticados con LLA-B. El medio de transporte fue RPMI 1640 con 20% suero fetal y heparina. La muestra por método directo y/o 24 hrs fue sometida a estres con colcemid y luego a un choque hipotónico con KCL 0.075M, se prepararon las láminas para bandeó tripsina-Giemsa (TG). El análisis y conclusiones se llevaron a cabo según ISCN (1995). Se realizaron dos cariotipos por clon leucémico con el uso del Sistema Computarizado Chantall, se imprimieron dos fotos y fueron almacenados en el archivo del Laboratorio de Citogenética.

RESULTADOS

El análisis de las 177 médulas mostró cultivos no exitosos en un 17% de los casos, mientras que los cultivos exitosos representaron el 83%, obteniéndose los cariotipos analizables que permitieron el análisis citogenético. La distribución observada entre los cariotipos normales y aquellos con anomalías cromosómicas fue 29% y 71% respectivamente. La distribución de los tipos de aberraciones encontradas fue: t(4;11) 3%, t(9;22) 3%, t(1;19) 5%, hiperdiploides (39%) y otras aberraciones cromosómicas (21%).

DISCUSIÓN

Una serie de aberraciones cromosómicas recurrentes han sido identificadas en niños con

LLA-B. Muchas de ellas correlacionan en forma estrecha con las características clínicas, morfológicas, inmunofenotípicas presentes en el diagnóstico y son usadas para predecir el pronóstico y escoger la terapia adecuada. En los primeros estudios de cariotipos clonales realizados, las aberraciones fueron encontradas en la mitad de los casos estudiados, el avance de las técnicas y la mayor experiencia ha mejorado estos porcentajes, por ejemplo una revisión tomada del "Tercer Taller Internacional" sobre cromosomas y leucemias (1981) encontró un 66% de aberraciones. Las frecuencias de las anomalías han diferido entre laboratorios, países y regiones geográficas y se han informado desde un 51 a un 90% (Rubin y Le Beau 1991).

Las siguientes son algunas proporciones de aberraciones observadas en diferentes laboratorios utilizando solo citogenética convencional: 92.3% (Silva *et al.* 2002), 77.1% (Pérez-Vera *et al.* 2001), 71% (Venegas *et al.* 2003), 70% (van der Plas *et al.* 1992), 68% (Andreasson *et al.* 2000); 57% (Forestier *et al.* 2000), 60% (Nordgren *et al.* 2002), 59.5% (Kowalczyk *et al.* 1985).

Sin embargo es frecuente el fallo en poder detectar las aberraciones cromosómicas como lo muestran los valores anteriores. Este fallo se atribuye generalmente a una muestra pobre de médula ósea, metafases insuficientes e inadecuadas y a una sobrepoblación de la actividad mitótica de las células no-leucémicas sobre las células leucémicas (Wu *et al.* 2003). El recibir y procesar una médula ósea para un estudio citogenético requiere de muchos cuidados. Gracias al análisis de los cromosomas en médula ósea se demostrará la presencia de una alteración clonal, indicando la ubicación potencial de los oncogenes involucrados en el proceso oncogénico.

Así, aunque la citogenética en la LLA es un campo fascinante para el citogenetista y a pesar del impacto que da su información, esta muchas veces resulta frustrante debido a que la muestra se puede coagular, la morfología puede ser muy pobre y en un cierto porcentaje (como en nuestro caso de un 17%) se falla en detectar células en división para el análisis, lo

que convierte en un verdadero reto el tratar de encontrar aberraciones en los cromosomas de médula ósea.

Hoy en día se han desarrollado técnicas mucho más sensibles, como es el FISH donde se ha detectado que las células que habían sido informadas como normales, presentaban aberraciones cromosómicas que no fueron detectadas por la citogenética convencional (Wu *et al.* 2003). La frecuencia de 71% en la detección de aberraciones se puede aumentar con la aplicación de las técnicas de citogenética molecular y de biología molecular. Así es posible detectar las translocaciones de alto riesgo, translocaciones crípticas de excelente pronóstico como la t(12;21) que se encuentra en un 17% de los cariotipos normales (Martínez-Ramírez *et al.* 2001), detectar aberraciones nuevas y recurrentes que permitan ubicar nuevos oncogenes y conocer más a fondo la biología de la leucemia, y además lograr dar una terapia más segura y eficaz al paciente costarricense con leucemia.

En Costa Rica la demanda de cariotipos en médula ósea para estudio de neoplasias hematológicas van en aumento día a día, reflejando el valor de la citogenética en el área diagnóstica. La aplicación de esta técnica y el avance en la tecnología molecular la ubica como un arma valiosa en el manejo del paciente.

T(9;22)(q34;q11) BCR-ABL (Ph+):

Un mecanismo por el cual las translocaciones cromosómicas contribuyen a la patogénesis leucémica es a través de la formación de proteínas quiméricas. El mejor ejemplo de un oncogen quimérico es la fusión BCR-ABL en el cromosoma 22 el producto presenta una alta actividad constitutiva de tirosina quinasa que involucra a la célula hematopoyética a importantes cambios en sus actividades biológicas, en un punto crítico de su potencial ontogénico. Este conocimiento ha permitido desarrollar una terapia dirigida conocida como "Target Therapy" (Sattler *et al.* 2003, Kurzrock *et al.* 2003).

En general se informa en un porcentaje de 2-5% en los niños con LLA-B. Otros ejemplos

de informes, 2.2% en países nórdicos (Forestier 2000), son 2-3% (GFCH 1993). En nuestros pacientes fue detectado en un 3%, lo cual se ubica en el mismo riesgo de los pacientes con LLA-B, Ph+ informados a nivel mundial. Este rearrreglo cromosómico estructural tiene un pobre pronóstico.

T(1;19)(q23;p13)(E2A-PBX1):

Esta translocación permite el rearrreglo de genes que codifican factores de transcripción, sugiriendo un mecanismo de transformación a través de la desregulación transcripcional. Esta translocación pertenece al grupo de translocaciones de mal pronóstico en las LLA-B (Uckum *et al.* 1998) y su frecuencia es muy variada en diferentes poblaciones alcanzando desde 25% y hasta un 1%, en promedio se informa entre un 5% a 6% de los casos con LLA (Pui *et al.* 1990); otros informes han sido: 5% (Rutherford *et al.* 2001), 5%-10% (Boomer *et al.* 2001), 5%-6% (Alter *et al.* 2000), 1.3% (Forestier *et al.* 2000). En nuestro estudio se detectó en un 5%, el cual lo ubica en promedio general informado. Esta es la translocación más frecuente de alto riesgo encontrada en nuestra población pediátrica con LLA-B. Los protocolos de tratamiento de pacientes de alto riesgo de países desarrollados pueden ser aplicados a nuestra población pediátrica con LLA-B.

T(4;11)(q21;q23) MLL/AF4:

Esta translocación pertenece a un grupo bien documentado de translocaciones cromosómicas que involucra el rearrreglo del gen MLL (ALL1 o HRX) ubicado en la banda 11q23. Este gen MLL es el oncogén más "promiscuo" informado en la leucemia humana (Thirman *et al.* 1993). La detección de esta translocación de mal pronóstico es sumamente importante para tomar medidas en el manejo terapéutico del paciente, además es una de las anormalidades más comunes en la leucemia del infante informada en un 85% de los casos (Secker-Walker 1998). A nivel molecular esta fusión da un producto de transcripción

quimérico (Koning *et al.* 2002). Su frecuencia en LLA-B pediátrica se informa desde un 2% (Forestier *et al.* 2002) a un 6% (Rubin y Le Beau 1991). La frecuencia en nuestro estudio representa un 3% el cual esta también ubicado entre los informes a nivel mundial.

Hiperdiploide (mayor de 47 cromosomas):

El cariotipo hiperdiploide está asociado a un muy buen pronóstico (Zemanova *et al.* 2001, Raimondi *et al.* 1992, Martín Ramos *et al.* 2001, Harrison 2001, Martínez Ramírez *et al.* 2001). La heterogeneidad de esta condición se ha informado que influye en la respuesta al tratamiento (Raimondi *et al.* 1996).

La baja hiperdiploidía (de 47-50 cromosomas) tiene una frecuencia de 10%-15% y la alta hiperdiploidía (>51 cromosomas) representa el 25-30% de los casos de LLA-B (Raimondi *et al.* 1992). En nuestro informe alcanzo un total de 39% de cariotipos hiperdiploides (>47 cromosomas). Los protocolos de tratamiento de pacientes con bajo riesgo de países desarrollados pueden ser aplicados en nuestros pacientes de bajo riesgo.

Cariotipos Normales:

El porcentaje de cariotipos normales cubre en nuestro estudio el 29%. En varios estudios se ha logrado mostrar como los cariotipos normales con la aplicación de técnicas de citogenética molecular como hibridación genómica comparativa (CGH, por sus siglas en inglés) y FISH han permitido detectar pequeños desbalances (Jarosova *et al.* 2000), anormalidades cromosómicas nuevas y recurrentes (Nordgren *et al.* 2002), y aberraciones cromosómicas submicroscópicas (Koning *et al.* 2002). El FISH aumenta la resolución en la detección de las anormalidades cromosómicas lo que nos permitirá comprender los mecanismos patogénicos de los pacientes con LLA (Alter *et al.* 2000).

Otro aspecto importante es que la alteración genética más común en LLA-B es la translocación críptica t(12;21)(p13;q22), que está relacionada a buen pronóstico y se encuentra

alrededor de un 17% (Martínez-Ramírez *et al.* 2001, Mathew 2001). Estando presente esta translocación, el cariotipo convencional se ve normal. Es pertinente aclarar que la translocación de excelente pronóstico, la t(12;21)(p13;q22) fusión TEL-AML1 informada con un 20%-30% de las LLA-B (Maloney *et al.* 1999), es una translocación críptica que no puede ser detectada por los métodos convencionales aplicados en este estudio, de hecho la técnica para el diagnóstico de esta translocación debe ser incorporada y debe formar parte de la rutina diagnóstica en nuestro laboratorio.

Los porcentajes obtenidos en nuestros estudios no difieren sustancialmente de otros descritos, aunque nuestra población es el producto de diferentes grupos étnicos (Morera *et al.* 2001, 2003, Chaves-Villalobos *et al.* 2004), nuestro resultado muestra que la frecuencia de cada una de las aberraciones cromosómicas recurrentes de impacto pronóstico es similar a las encontradas en las poblaciones sin el alto grado de mestizaje presente en la población costarricense. Aun se debe aclarar que el comportamiento de otras leucemias como la Leucemia Promielocítica Aguda, que por estudios epidemiológicos muestra una frecuencia más elevada en pacientes de origen latino (Douer 2003). Es importante prestar atención a las otras aberraciones cromosómicas ya que nos puede permitir identificar nuevas aberraciones y hacer estudios de sus frecuencias, ubicar e identificar nuevos oncogenes en la población costarricense, esto debe ser apoyado por estudios con citogenética molecular, genética molecular, polimorfismos de ADN, farmacogenética y estudios por microarreglos genéticos (microarrays). En conclusión, destacamos la urgente necesidad de fortalecer el área de citogenética para dar un servicio a nivel nacional a los pacientes con diferentes tipos de leucemia.

RESUMEN

Se realizaron análisis cromosómicos en médulas óseas de 177 pacientes con Leucemia Linfocítica Aguda. Las técnicas citogenéticas convencionales forman parte del panel obligatorio de análisis realizados como diagnóstico a

los pacientes con leucemia y representan una gran ventaja por ser factores efectivos e independientes de pronóstico, esenciales para la elección terapéutica. Los resultados citogenéticos fueron alcanzados en 83% de las muestras de médula ósea: los cariotipos normales representaron el 29% y los cariotipos anormales el 71% con la siguiente distribución: t(9;22) 3%; t(1;19) 5%; t(4;11) 3%, hiperdiploidía 39%; otras anormalidades cromosómicas 21%. El análisis citogenético sistemático es esencial para definir los subtipos morfo-inmunológicos de leucemia, y para detectar nuevas translocaciones que conduzcan a la comprensión de la génesis de la leucemia.

REFERENCIAS

- Andreasson, P., M. Hoglund, A.N. Bekassy, S. Garwicz, J. Heldrup, F. Mitelman & B. Johansson. 2000. Cytogenetic and FISH studies of a single center consecutive series of 152 childhood acute lymphoblastic leukemias. *Eur. J. Haematol.* 65: 40-51.
- Alter, D. & H.F. Mark. 2000. Cytogenetics study of a patient with acute lymphoblastic leukemia using GTG-banding and chromosome painting. *Exp. Mol. Pathol.* 69: 152-158.
- Bhatia, S., H.N. Sather, N.A. Heerema, M.E. Trigg, P.S. Gaynon & L.L. Robison. 2002. Racial and ethnic differences in survival of Children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 100: 1957-1964.
- Boomer, T., M. Varella-Garcia, L. McGavran, L. Meltesen, A.S. Olsen & S.P. Hunger. 2001. Detection of E2A translocation in leukemias via fluorescence in situ hybridization. *Leukemia* 15: 95-102.
- Castro Volio, I., C. Montero & G. Jiménez. 1993. Características cromosómicas asociadas con leucemias y otras hematopatías en Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 41: 385-392.
- Castro Volio, I. 2004. Pasado, presente y futuro de la citogenética humana en Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 52: 133-140.
- Chaves-Villalobos M., G. Jiménez-Arce, M. Sandí-Díaz. 2004. Polimorfismo del gen de la banda 3 eritrocítica en grupos étnicos de Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 52(3): 255-259.
- Dower, D. 2003. The epidemiology of Acute promyelocytic Leukemia: Best Pract Res Clin. *Haematol.* 16: 357-367.
- Forestier, E., B. Johansson, G. Borgstrom, G. Kerndrup, J. Johansson & S. Heim. 2000. Cytogenetics finding in a population-based series of 787 childhood acute lymphoblastic leukemias from the Nordic Countries. The NOPHO Leukemia Cytogenetic study. Group. *Eur. J. Haematol.* 64: 194-200.
- GFCH. 1993. Groupe Francais de Cytogetique Hematologique: collaborative study of Karyotypes in childhood acute lymphoblastic leukemias. *Leukemia* 7: 10-19.
- Gisselbrecht, S. 2003. Oncogenes and leukemia: history and perspectives. *Med. Sci. (Paris)*. 19: 201-210.
- Harrison, C.J. 2001. The detection and significance of chromosomal abnormalities in childhood acute lymphoblastic leukaemia. *15: 49-59.*
- Hyakuna, N., Y. Kaneko, N. Katano, T. Iwai, T. Nagata, K. Sakashita, O. Takeda, A. Tanaka, H. Azuma, I. Sekine & T. Fujimoto. 2000. Prognosis significance of chromosome analysis in childhood acute lymphoblastic leukemia. Children s cancer and leukemia study group (CCLSG). *41: 576-584.*
- ISCN. 1995. An International Sytem for Human Cytogenetic Nomenclature. Basel Karger, pp. 1-114.
- Jarsova, M., M. Holzerova, K. Jedlickova, V. Mihal, J. Zuna, J. Sary, D. Pospisilova, Z. Zemanova, J. Trka, J. Blazek, Z. Pikalova & K. Indrak. 2000. Importance of using comparative genomic hybridization to improve detection of chromosomal changes in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.* 123: 114-122.
- Jiménez Bonilla, R. 2004. Historia de la investigación de la leucemia en Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 52: 155-165.
- Koning, M., M. Reichel, R. Marschalex, O.A. Haas & S. Strehl. 2002. A highly specific and sensitive fluorescence in situ hybridization assay for the detection of t(4;11)(q21;q23) and concurrent submicroscopic deletions in acute leukaemias. *Br. J. Haematol.* 116: 758-764.
- Kurzrock, R., H.M. Kantarjian, B.J. Druker & M. Talpaz. 2003. Philadelphia Chromosome-positive leukemias: from basic mechanisms to molecular therapeutics. *Ann. Intern. Med.* 138(10): 819-830.
- Maloney, K., L. McGavran, J. Murphy, L. Odom, L. Stork, Q. Wei & S. Hunger. 1999. TEL-AML1 fusion identifies a subset of children with standard risk acute lymphoblastic leukemia who have excellent prognosis when a treated with therapy that includes a single delayed intensification. *Leukemia* 13: 1708-1712.
- Lu, X.Y., C.P. Harris, L. Cooley, J. Margolin, P.C. Steuber, M. Sheldon, P.H. Rao, C.C. Lau. 2002. The utility of spectral Karyotyping in the cytogenetic analysis of newly diagnosed pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 16: 2222-2227.

- Ma, S.K., T.S. Wan & L.C. Chan. 1999. Cytogenetics and molecular genetics of Childhood leukemia. *Hematol. Oncol.* 17(3): 91-1058.
- Martín Ramos, M., F. Fernández Martínez & E. Barreiro Miranda. 2001. Cytogenetic abnormalities in acute lymphoblastic leukemia. *An. Esp. Pediatr.* 55(1): 45-52.
- Martínez-Ramírez, A., M. Urioste, T. Contra, A. Cantalejo, A. Tavares, J.A. Portero, B. Lopez-Ibor, M. Bernacer, C. Soto, J.C. Cigudosa & J. Benitez. 2001. Fluorescence in situ hybridization study of TEL/AML fusion and other abnormalities involving TEL and AML genes. Correlation with Cytogenetic finding and prognostic value in children with acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica* 86: 1253-1254.
- Mathew, S., P.H. Rao, J. Dalton, J.R. Downing & S.C. Raimondi. 2001. Multicolor spectral karyotyping identifies novel translocations in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 15: 468-472.
- Morera, B., R. Marín-Rojas & R. Barrantes. 2001. Análisis de varios marcadores genéticos clásicos en la población de Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 49: 1237-1252.
- Morera, B., R. Marín-Rojas & R. Barrantes. 2003. Gene Admixture in the Costa Rican Population. *Ann. Hum. Genet.* 67: 71-80.
- Nordgren, A., M. Heyman, S. Sahlen, J. Schoumans, S. Soderhall, M. Nordenskjöld & E. Blennow. 2002. Spectral Karyotyping and interphase FISH reveal abnormalities not detected by conventional G-banding. Implications for treatment stratification of Childhood acute lymphoblastic leukemia: detailed analysis of 70 cases. *Eur. J. Haematol.* 68: 31-41.
- Patel, A.S., A.L. Hawkins & C.A. Griffin. 2000. Cytogenetics and cancer. *Curr. Opin. Oncol.* 12: 62-67.
- Perez-Vera, P., M. Mujica-Sanchez, A. Carnevale, R. Rivera-Luna, R. Paredes, A. Martínez & Frias. 2001. Cytogenetic in acute lymphoblastic leukemia in Mexican Children: an Institutional experience. *Arch. Med. Res.* 32: 202-207.
- Pui, C.-H., W.M. Crist & T. Look. 1990. Biology and Clinical Significance of Cytogenetic Abnormalities in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Blood* 76: 1449-1463.
- Raimondi, S.C., P.K. Roberson, C.H. Pui, F.G. Behm & G.K. Rivera. 1992. Hyperdiploid (47-50) acute lymphoblastic leukemia in children. *Blood* 79: 3245-3252.
- Raimondi, S.C., C.H. Pui, M.L. Hancock, F.G. Behm, L. Filatov & G.K. Rivera. 1996. Heterogeneity of hyperdiploid (51-67) childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 10: 213-224.
- Rubin, C.M. & M.M. Le Beau. 1991. Cytogenetic abnormalities in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Am. J. Pediatr. Hematol. Oncol.* 13: 202-216.
- Rutherford, M.N., G.R. Bayly, B.P. Matthews, T. Okuda, W.M. Dinjens, H. Kondoh & D.P. LeBrun. 2001. The leukemogenic transcription factor E2a-Pbx1 induced expression of the putative N-myc and p53 target gene NDRG1 in Ba/F3 cells. *Leukemia* 15: 362-370.
- Sattler, M., B. Scheijen, E. Weisberg & J.D. Griffin. 2003. Mutated tyrosine Kinases as therapeutic targets in myeloid leukemia. *Adv. Exp. Med. Biol.* 532: 121-140.
- Secker-Walker, L.M. 1998. on behalf of the European 11q23 Workshop Participants. General Report on the European Union Concerted Action Workshop on 11q23. *Leukemia* 12: 776-778.
- Silva, M.L., M.H. Ornellas de Souza, R.C. Ribeiro, M.G. Land, A.M. Boulhosa de Azevedo, F. Vasconcelos, L. Otero, Z. Vasconcelos, L.F. Bouzas & E. Abdelhay. 2002. Cytogenetic Analysis of 100 consecutive newly diagnosed cases of Acute Lymphoblastic Leukemia in Rio de Janeiro. *Cancer Genet. Cytogenet.* 137: 85-90.
- Smith, M.A., L.A.G. Ries, J.G. Gurney & J.A. Ross. 1999. Leukemia. In L.A.G. Ries, M.A. Smith, J.G. Gurney, M. Linet, T. Tamra, J.L. Young, & G.R. Bunin. (eds.). *Cancer Incidence and Survival Among Children and Adolescents: United States SEER Program 1975-1995*. Bethesda Md: Cancer Statistics Branch, Cancer Surveillance Research Program, Division of Cancer Control and Population Sciences, National Cancer Institute. pp. 17-34.
- Solís, V., M. de los A. Alvarado, E. Ruiz, J. Carrillo, M. Navarrete, G. Sánchez & E. Jiménez. 2000. Citogenética y citotóxica de pacientes con leucemia en dos hospitales neotropicales. *Rev. Biol. Trop.* 48: 707-718.
- Third International Workshop on chromosome in Leukemia. 1981. Chromosome in Leukemia. Chromosomal Abnormalities in acute Lymphoblastic leukemia. *Cancer. Genet. Cytogenet.* 4: 101-110.
- Thirman, M.J., H.J. Gill, R.C. Burnett, *et al.* 1993. Rearrangement of MLL gene in acute lymphoblastic and acute myeloid leukemias with 11q23 chromosomal translocations. *N. Engl. J. Med.* 329: 909-914.

- Uckun, F.M., M.G. Sensel, H.N. Sather, P.S. Gaynon, D.C. Arthur, B.J. Lange, P.G. Steinherz, P. Kraft, R. Hutchinson, J.B. Nachman, G.H. Reaman & N.A. Heerema. 1998. Clinical Significance of translocation t(1;19) in a childhood acute lymphoblastic leukemia in the context of comterporay therapies: a report from the children s cancer group. *J. Clin. Oncol.* 16: 527-535.
- van der Plas, D.C., K. Hahlen & A. Hagemeyer. 1992. Prognostic significance of karyotype at diagnosis in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* 6: 176-184.
- Venegas, P. 2001a. Interfase-FISH en un paciente con leukemia mielocítica crónica. *Rev. Méd. Hosp. Nac. de Niños.* 36: 9-13.
- Venegas, P. 2001b. Translocación t(4;11) de infantes con leucemia linfocítica aguda. *Rev. Méd. Hosp. Nac. Niños.* 36: 5-8.
- Wu, S.Q., K.I. Weinberg, W.J. Joo, J.J. Quinn, J. Franklin, S.E. Siegel & P.S. Gaynon. 2003. Preponderant mitotic activity of nonleukemic cells plays an imprtant role in failures to detect abnormal clone in childhood acute lymphoblastic leukemia. *J. Pediatr. Hematol. Oncol.* 25: 520-525.
- Zemanova, Z., K. Michalova, J. Brezinova, L. Sindelarova, S. Kurkova, P. Smisek, J. Zuna, J. Trka & J. Sary. 2001. Fluorescent in situ Hybridization (FISH) in the diagnosis of acute childhood lymphatic leukemia (ALL). *Cas. Lek. Cesk.* 140: 519-524.