

Estudio cromosómico en leucemias linfoblásticas agudas.

César Paz y Miño^{1,2}, María Eugenia Sánchez^{1,2}, Melissa Arévalo¹, Ramiro Burgos³, Juan Carlos Ruiz³, Adriana Tapia¹ y Paola Leone E^{1,2}.

¹Laboratorio de Genética Molecular y Citogenética Humana. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Ciencias Biológicas, ²Unidad de Genética, Facultad de Medicina. Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador. ³Laboratorio de SOLCA, Guayaquil, Ecuador.

Resumen

Se han identificado anomalías clonales en aproximadamente 65-90% de los niños con leucemia linfoblástica aguda (LLA). El objetivo de este estudio es identificar las alteraciones que permitan caracterizar LLA en nuestra población. Se aplicaron las técnicas citogenéticas y moleculares estándar para analizar las células en médula ósea. Pseudodiploidías fueron observadas en 43.4% de los casos, hiperdiploidías en 32.9% e hipodiploidías en 21%. Los cromosomas #3, #8, #10, #12, #15, #16, #17, #18, #19, #21, #22 y X estuvieron mayormente involucrados en diferentes tipos de cambios. El rearrreglo BCR-ABL fue encontrado en el 42.8% de los casos. Algunos de estos resultados son similares a los publicados por otros autores, por lo que pueden considerarse como evidencia de que estos cromosomas están involucrados en rearrreglos no al azar en la LLA. La determinación de estas anomalías es una herramienta útil que ayudará a caracterizar la LLA, a diseñar un tratamiento adecuado y ayudará en el pronóstico del paciente. **Rev Fac Cien Med (Quito) 2001; 26(2-3): 15-19**

Palabras Clave: Leucemia Linfoblástica Aguda, Alteraciones Cromosómicas, Rearreglos genéticos.

Abstract

Clonal abnormalities can be identified in approximately 65-90% of childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL). The objective of this study is to identify the abnormalities that could be useful to characterize ALL in our population. Cytogenetic and molecular standard techniques were applied to analyze bone marrow cells. Pseudodiploidy was observed in 43.4% of the cases, hyperdiploidy in 32.9% and hypodiploidy in 21%. Chromosomes #3, #8, #10, #12, #15, #16, #17, #18, #19, #21, #22 and X were involved in different types of changes most frequently. The rearrangement bcr-abl was found in 42.8% of the cases. Some of this findings are similar to data published by others authors, so they can be considered as evidence of nonrandom involvement of these chromosomes in rearrangements in ALL. The knowledge of this abnormalities is a useful tool that will further contribute to characterize ALL, to select a treatment strategy and to help in the prognosis of the patients. **Rev Fac Cien Med (Quito) 2001; 26(2-3): 15-19**

Key words: Acute Lymphoblastic leukemia, Chromosomal abnormalities, Genetic rearrangements.

Introducción

La mayoría de las neoplasias humanas incluyen aberraciones cromosómicas precisas que están específicamente ligadas a la patogénesis del proceso maligno.¹ Más de 100 aberraciones cromosómicas específicas se han identificado como cambios no al azar en el cáncer humano. Además se han caracterizado molecularmente varias mutaciones que indican que cambios cromosómicos adquiridos en el cáncer, frecuentemente provocan desregulación o mutación de genes involucrados normalmente en el

control de la proliferación celular. La tumorigenicidad in vitro junto con experimentos en animales han demostrado que las mutaciones genéticas, aparentemente como cambios cromosómicos grandes, pueden representar pasos críticos en el desarrollo de la malignidad.¹⁻⁵

La Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) es una enfermedad principalmente de la infancia, con 2-3 casos por 100.000 al año y con un pico de frecuencia entre 2 y 5 años de edad.⁶ Las anomalías clonales pueden ser identificadas en aproximadamente 65-70% de niños con LLA,^{5,7} aunque también se ha reportado que las anomalías numéricas y estructurales ocurren hasta en un 90% de casos.⁸ En la mayoría de los casos los genes involucrados en estas alteraciones han sido identificados, dando importantes avances en la comprensión de la patogé-

Dirección para correspondencia: Dr. César Paz-y-Miño. Laboratorio de Genética Molecular y Citogenética Humana. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Departamento de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, P.O.Box 17-01-2184. Quito-Ecuador, E-mail:cpazymino@puceuo.puce.edu.ec

nesis de la enfermedad, en la fisiología celular normal⁶ y sobre todo constituyen una herramienta muy útil en la prognosis de los individuos con LLA.

El conocimiento de las anomalías cromosómicas adquiridas por las células leucémicas es fundamental para la comprensión de los cambios genéticos en el proceso de malignización.⁹ En el caso de las translocaciones presentes en las células leucémicas, se conoce que estas alteraciones tienen su punto de rotura en un gen específico localizado en el cromosoma implicado en dicha translocación, y que puede o no coincidir con el sitio de ubicación de un oncogen.^{10,11} Por lo tanto, la reunión inapropiada de los cromosomas en una translocación ha sido implicada en la producción de un gen quimérico con un nuevo mRNA y un producto proteico anormal, o en la alteración de los mecanismos reguladores normales del gen, de tal modo que podrían contribuir a un crecimiento celular anormal.⁹

El dato del número cromosómico (ploidía) obtenido a partir del análisis citogenético es vital para correlacionar con el tratamiento que se dará a los pacientes con LLA pediátrica.¹² Los pacientes con cariotipos hiperdiploides (< 51 cromosomas) parecen tener una respuesta más favorable a la quimioterapia, mientras que aquellos con 45 o 47-50 cromosomas tienen una respuesta intermedia. Aquellos pacientes con hipodiploidía (< 45 cromosomas) y pseudodiploidía (46 cromosomas con alteraciones estructurales) tienen una pobre respuesta a la quimioterapia.¹³⁻¹⁷ Lo mencionado anteriormente, confirma que el análisis citogenético y molecular de los pacientes con LLA es de gran importancia clínica para el diagnóstico, tratamiento y pronóstico de estos pacientes.

Materiales y métodos

Se analizaron citogenéticamente muestras de médula ósea de pacientes con diagnóstico hematológico de Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA). El análisis citogenético se lo realizó siguiendo la técnica estándar de nuestro laboratorio, que consiste en preparación directa y cultivo de 24 horas. La misma que implica el uso de colchicina, choque hipotónico (KCl 0,54%), fijador de Carnoy (Metanol-Acido acético 3:1) y extensión en placas portaobjetos para finalmente realizar tinción con Giemsa y bandeado GTG.¹⁸ Para el análisis molecular, se extrajo, RNA total y mensajero, según la metodología estándar descrita por otros autores.¹⁹

Para calcular el porcentaje total de alteraciones numéricas no se tomó en cuenta el número total de individuos analizados, sino el total de alteraciones en las dos o más líneas celulares presentes en todos los pacientes. Adicionalmente, con el objetivo de conocer específicamente que cromosomas estaban implicados con mayor frecuencia en ganancias o pérdidas y en alteraciones estructurales, el porcentaje se lo obtuvo del total de cromosomas alterados en todas las líneas celulares de los individuos analizados.

Se realizó al análisis de los datos comparándolos con la literatura publicada, siguiendo la nomenclatura del ISCN (1995)²⁰ y el análisis estadístico se lo realizó usando el programa 2by2 el cual aplica la

prueba de chi cuadrado y automáticamente calcula el nivel de significación con el que se están analizando los datos obtenidos.

Resultados

Se analizaron un total de 157 muestras de médula ósea, de 88 hombres y 69 mujeres.

Dentro del análisis se tomó en cuenta también los individuos que presentaron cariotipos normales (127 casos), de los cuales el 63.7% mostró cariotipo 46,XY y el 36.2% cariotipo 46,XX.

Del total de alteraciones numéricas se encontró que el mayor porcentaje (43.4%) son pseudodiploidías (es decir metafases con 46 cromosomas y cambios estructurales), seguidas de hiperdiploidías con un 32.9% y en menor porcentaje otras alteraciones que se detallan en la tabla 1.

Tabla 1. Alteraciones numéricas encontradas en las líneas celulares de los individuos con LLA.

TIPO DE ALTERACIONES NUMÉRICAS	%
Hiperdiploidía	32,9
Pseudodiploidía (46 chr y cambios estructurales)	43,4
Hipodiploidía (< 46 chr)	21,0
66 a 90 cromosomas o más	2,6

En los casos de hiperdiploidías, los cromosomas más comúnmente ganados fueron: 3, 8, 10, 12, 18, 19, 21, 22 entre otros. Dentro de las hipodiploidías se observaron pérdidas, especialmente en los cromosomas: 3, 10, 15, 16, 17, 19, 21, 22, X entre otros. Estos datos se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Porcentaje de cromosomas ganados y perdidos en las líneas celulares de los individuos con LLA.

HIPERDIPLOIDÍAS		HIPODIPLOIDÍAS	
Cromosoma	%	Cromosoma	%
2	4	1	4
3	8	2	8
7	4	3	4
8	8	5	8
10	12	6	12
11	4	7	4
12	8	8	8
15	4	9	4
16	4	10	4
17	4	11	4
18	8	12	8
19	8	15	8
20	4	16	4
21	8	17	8
22	12	18	12
		19	
		21	
		22	
		X	

Un caso interesante de anotar es el encontrado en un individuo con cariotipo 92, XYY.

En la tabla 3 se observan algunas de las alteraciones cromosómicas estructurales más representativas encontradas en todas las líneas celulares analizadas en este estudio. Dentro del análisis del cromosoma Filadelfia (Ph) se encontró que el 10% de metafases analizadas presentaron el cromosoma (Ph+), 0,6% de metafases mostraron la translocación t(8;14) e igual porcentaje de metafases presentaron la translocación t(6;21). En los casos en los que se realizó el análisis molecular (49 casos), solamente 21 (42,8%) presentaron el rearrreglo BCR-ABL, de estos, el 100% presentaron el rearrreglo e1/a2 en la región m-bcr. El tamaño de los fragmentos para los productos de PCR fue de 100 pb (pares de bases) para el rearrreglo e1/a2.²¹ No se encontraron diferencias entre hombres y mujeres.

Tabla 3. Alteraciones cromosómicas estructurales encontradas en las líneas celulares de los individuos con LLA.

TIPO DE ALTERACIÓN	%
Ph +	10,0
doble minutos	2,4
t (8;14)	0,6
t (6;21) (p1?;q22)	0,6
2q+	0,6
+8q	0,6
22q-	0,6
+1 mar	0,6
+2 mar	1,8
+3 mar	1,2
+4 mar	0,6
del (1) (p22), (p32).(q31)	1,8
del (2) (q33)	0,6
del (4) (q32)	0,6
del (6) (q31)	2,9
del (8) (p12)	0,6
del (10) (q23 - ter)	0,6
der (21)	0,6
i (17)	0,6

Finalmente se hizo un análisis de la edad de presentación de LLA (Tabla 4) y se vio que el mayor porcentaje correspondía al intervalo de edad entre 11 a 15 años, seguido del intervalo de 16 a 20 años.

Tabla 4. Individuos con LLA según la edad de presentación de la enfermedad.

EDAD (AÑOS)	PORCENTAJE DE INDIVIDUOS CON LLA
0 - 5	15,5 %
6 - 10	18,6 %
11 - 15	25,0 %
16 - 20	24,0 %
21 - 25	4,2 %
26 - 30	1,7 %
31 - 35	1,7 %
36 - 40	1,7 %
41 - 45	0,8 %
46 - 50	1,7 %
51 - 55	0,8 %
56 - 60	0,8 %
60 en adelante	4,2 %

Discusión

El estudio de leucemias implica algunas dificultades en su análisis y especialmente las LLA han presentado más problemas técnicos que los otros tipos de leucemia, como por ejemplo: muestras inadecuadas, células blásticas que pueden ser tener una viabilidad limitada, muerte celular antes de llegar al laboratorio, la médula ósea puede resultar difícil de aspirar, la muestra de sangre periférica enviada como una alternativa, es adecuada solamente si el número de blastos circulantes es suficiente (>2%), la morfología cromosómica tiende a ser pobre, los cromosomas no se dispersan fácilmente, y los resultados del bandedo pueden ser insatisfactorios, se aconseja hacer varios cultivos de diferente duración cuando la muestra llega tarde.⁹ Todo esto impide en algunos casos el que se pueda hacer un análisis citogenético y molecular adecuado para la obtención de resultados completos, sin embargo se ha logrado obtener los resultados ya mencionados, adaptando y modificando las técnicas a las condiciones de la muestra y de nuestro laboratorio.¹⁸ Se sabe además que un tercio de pacientes con leucemia aguda no tienen aberraciones citogenéticas detectables al momento del diagnóstico.^{22,23}

Al analizar las alteraciones numéricas de los individuos con LLA (tabla 1), se observan que el 43.4% corresponde a las pseudodiploidías, dato que es muy similar p<0.05) al 40% informado, en otros estudios, para este tipo de alteración numérica.²⁴ En el caso de las hiperdiploidías encontramos un 32.9%, dato que no muestra diferencias significativas p<0.05) con 24% informado para hiperdiploidías en general.²⁴⁻²⁶ Algo similar ocurre con las metafases

cercanas a triploidía (tetraploidía cuyo porcentaje reportado es menor a 1% comparado con 2.6% encontrado en nuestro trabajo $p < 0.05$).^{24,26}

A pesar de las similitudes antes mencionadas, como se observa en la tabla 1, el porcentaje de hipodiploidías encontrado en el presente estudio (21%), muestra diferencias significativas $p < 0.001$ con datos reportados en otros trabajos similares (4.9%). Con respecto a esto, en la bibliografía publicada se ha establecido que las hipodiploidías son raras en LLA.²⁷⁻³⁰

En el análisis del número modal más común dentro de las hipodiploidías se observó, en nuestro trabajo, que 45 y 47 eran los más comunes lo que coincide con lo reportado en otro estudio en el cual el más común fue 45.²⁵

Según lo informado en la literatura los cromosomas más comúnmente ganados son: 4, 6, 8, 10, 14, 17, 18, 21, y 22,²⁷⁻³⁰ en otros casos se observó la ganancia de un solo cromosoma, +8 o +20,³¹ coincidiendo con nuestros datos, los cromosomas 8, 10, 17, 18, 20, 21 y 22 siendo los más frecuentemente ganados el cromosoma 10 y 22 con un 12% entre las hiperdiploidías. Dentro de las monosomías como único cambio se mencionan a los cromosomas 5, 7, 9, 20, y X,²⁷⁻³⁰ coincidiendo con los reportados en nuestro estudio todos, a excepción del cromosoma 20. Estos resultados podrían explicarse probablemente por la presencia de alteraciones cromosómicas al azar y no al azar, ya que se ha reportado que las anomalías cromosómicas en leucemias pueden ser de dos tipos: cambios primarios y secundarios, los cuales a su vez pueden ser específicos o al azar.³² Además se conoce que, gracias a los recientes avances de la biología molecular y de los análisis citogenéticos en LLA, dentro de esta enfermedad hay una gran heterogeneidad.^{33,34}

Se sabe que aproximadamente el 20% de pacientes adultos con LLA tienen Ph+^{23,35} dato que no coincide con el 10% observado en nuestro trabajo. Este bajo porcentaje, podría explicarse porque en muchos casos en el análisis citogenético no se evidencia la presencia del cromosoma Ph+. Por otro lado, también se ha reportado un estudio en el cual no se encontró Ph+ en ninguno de los casos estudiados. Este estudio se realizó en una población geográficamente cercana a la de nuestra población ecuatoriana, por lo que se podría hablar de la posible existencia de una heterogeneidad geográfica de las anomalías cromosómicas en leucemias.³⁶

En cuanto a los resultados del análisis molecular se observa que el estudio de las frecuencias de las diferentes variantes de transcritos BCR-ABL, involucrados en leucemia, en grupos étnicos diferentes a los Caucásicos podría ser útil para un mejor entendimiento de las causas que conducen a la obtención de los diferentes transcritos BCR-ABL en leucemias,

ya que se conoce que poblaciones anteriormente analizadas involucraron en su mayoría individuos Caucásicos, mostrando frecuencias diferentes a las encontradas en el presente trabajo.³⁷⁻³⁹

Otra de las alteraciones encontradas es la delección del cromosoma 6. Las delecciones cromosómicas podrían desenmascarar genes recesivos con potencial oncogénico, esto se ha investigado en los casos en los cuales falta el brazo largo del cromosoma 6, región en la cual el oncogen c-myb ha sido mapeado.⁴⁰ Sin embargo de los casos investigados, c-myb ha sido retenido y no se ha detectado ningún rearrreglo del locus, pero si se encontró un nivel alto de la expresión de c-myb, en células con la delección al comparar con células malignas que no presentaron este rearrreglo cromosómico.⁹ Además en nuestro estudio, se encontró la presencia de la translocación t(6;21), coincidiendo en este rearrreglo el cromosoma 6, también involucrado en la delección mencionada anteriormente, aunque los puntos de rotura en los dos rearrreglos involucran diferentes bandas (Tabla 3). Un fenómeno similar fue reportado en la literatura, al observarse la translocación t(4;6) y la delección (6q).³¹

Relacionando el porcentaje de individuos con LLA y la edad de presentación de la enfermedad encontramos que el mayor porcentaje de individuos correspondía al intervalo de edad entre 11 a 15 años (25%) y en general los porcentajes más altos se ubican de los 20 años hacia abajo (Tabla 4). Estos datos son similares a aquellos en los cuales se indica que aproximadamente el 25% de pacientes tienen más de 15 años al momento de presentar la enfermedad, y aunque se han registrado pacientes con más de 70 años, la mayoría son adultos jóvenes de 30 años o menos.⁹

La caracterización de estos genes y conocer sus roles en el crecimiento y desarrollo normal de las células, constituyen una pieza clave para la mejor comprensión del proceso del cáncer. Por esto es muy importante la colaboración constante y continua de la citogenética con la genética y la biología molecular con el objeto de complementar de mejor manera el estudio de la LLA.

Agradecimiento

Este trabajo fue realizado gracias al financiamiento parcial del proyecto BID-FUNDACYT-PUCE-111.

Bibliografía

1. Gauwerky CE, Croce CM: Molecular Genetics and Cytogenetics of Hematopoietic Malignancies. En: Mendelsohn J, Howley P, Israel MA, Liotta LA, eds. The Molecular Basis of Cancer, Philadelphia, WB Saunders. 1995:31-32
2. Rowley JD: Recurring chromosome abnormalities in leukemia and lymphoma. *Semin Hematol* 27:122-136;1990
3. Nowell PC: Chromosomal approaches to hematopoietic oncogenesis. *Stem Cells* 11:9-19;1993

4. Yunis JJ: Molecular mechanisms of hematologic malignancies. *Crit Rev Oncogen* 4:161-190;1993
5. Cline MJ: The molecular basis of leukemia. *N Engl J Med* 330:328-336;1994
6. Farreras P, Rozman R: Hematología. En: *Medicina Interna*. Edición en CD-ROM.
7. Burmeister T, Thiel E: Molecular genetics in acute and chronic leukemias. *J Cancer Res Clin Oncol* 127:80-90;2001.
8. Alter D, Mark HF: Cytogenetic study of a patient with infant acute lymphoblastic leukemia using GTG banding and chromosome painting. *Exp Mol Pathol* 69:152-158;2000
9. Secker-Walker LM: Prognostic and Biological Importance of Chromosome Findings in Acute Lymphoblastic Leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 49:1-13;1990
10. Heim S, Mitelman F: Proliferation-specific and differentiation-associated chromosomal breakpoints in human neoplasia—a unifying model. *Hereditas* 104:307-312;1986
11. Rowley JD: Biological implications of consistent chromosome rearrangements in leukemia and lymphoma. *Cancer Res* 44:3159-3168;1984
12. Secker-Walker LM, Lawler SD, Hardisty RM: Prognostic implications of chromosomal findings in acute lymphoblastic leukaemia at diagnosis. *Br Med J* 2:1529-1530;1978.
13. Secker-Walker LM, Swansbury GJ, Hardisty RM, et al: Cytogenetics of acute lymphoblastic leukaemia as a factor in the prediction of long-term survival. *Br J Haematol* 52:389-399;1982
14. Williams DL, Harber J, Murphy SB, et al: Chromosomal translocations play a unique role in influencing prognosis in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 68:205-212;1986
15. Bloomfield CD, Goldman AI, Alimena G, et al: Chromosomal abnormalities identify high-risk patients with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 67:415-420;1986
16. Pui Ch, Williams DL, Raimondi SC, et al: Hypodiploidy is associated with a poor prognosis in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 70:247-253;1987
17. Williams DI, Tsiatis A, Brodeur GM, et al: Prognostic importance of chromosome number in 136 untreated Children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood* 60:864-871;1982
18. Paz-y-Miño C, Fiallo BF, Dávalos V, et al: Síndromes de Fragilidad Cromosómica en el Ecuador. *MetroCiencia* 9:19-22;2000
19. Chomczynski P, Sacchi N: Single-Step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem* 162:156-159;1987
20. ISCN: An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. Report of the Standing Committee on Human Cytogenetic Nomenclature. Published in collaboration with Cytogenetics and Cell Genetics. VI. Basel:KARGER, 1995
21. Paz-y-Miño C, Burgos R, Morillo S, et al: BCR-ABL rearrangement frequencies in CML and ALL in Ecuador, South America. *Cancer Genetics and Cytogenetics* 1-3;2001
22. Heim S, Mitelman F: *Cancer Cytogenetics*. New York, Alan R. Liss. 1987
23. Sandberg AA: The Ph chromosome. En: *The chromosomes in human cancer and leukemia*, New York, Elsevier. 1990:331-334
24. Secker-Walker LM: The prognostic implications of chromosomal findings in acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 11:233-248;1984
25. Groupe Français de Cytogénétique Hématologique: Collaborative Study of Karyotypes in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemias. *Leukemia* 7:10-19;1993.
26. Third International Workshop on chromosomes in Leukemia, 1980: Clinical significance of chromosomal abnormalities in acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 4:111-137;1981
27. Michael PM, Garson OM, Ekert H, Tauro G, Rennie GC, Pilkington GR: Prospective study of childhood acute lymphocytic leukemia: Hematologic, immunologic, and cytogenetic correlations. *Med Pediatr Oncol* 16:153-161;1988
28. Prigogina EL, Puchkova GP, Mayakova SA: Nonrandom chromosomal abnormalities in acute lymphoblastic leukemia of childhood. *Cancer Genet Cytogenet* 32:183-203;1988
28. Heerema NA, Palmer CG, Baehner RL: Karyotypic and clinical findings in a consecutive series of children with acute lymphocytic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 17:165-179;1985
30. Kowalczyk JR, Grossi M, Sandberg AA: Cytogenetic findings in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 15:47-64;1985
31. Secker-Walker LM, Alimena G, Bloomfield CD: Cytogenetics Studies of 21 Patients with Acute Lymphoblastic Leukemia in Relapse. *Cancer Genet Cytogenet* 40:163-169;1989
32. Heerema NA, Palmer CG, Weetman R, Bertolone S: Cytogenetic Analysis in Relapsed Childhood Acute Lymphoblastic. *Leukemia* 6:185-192;1992
33. Van Dongen JJM, Adriaanse HJ: Immunobiology of leukemia. En: Henderson ES, Lister TA, Greaves MF (eds). *Leukemia*, Philadelphia, WB Saunders. 1996:83-130
34. Pui Ch, Crist WM: Biology and treatment of acute lymphoblastic leukemia. *J Pediatr* 124:491-503;1994
35. Bloomfield CD, Peterson LC, Yunis JJ, Brunning RD: The Philadelphia chromosome (Ph1) in adults presenting with acute leukaemia: a comparison of Ph1 + and Ph1- patients. *Br J Haematol* 36:347-358;1977
36. Rojas A, Pineda L, Gonzalez S, et al: Chromosomal abnormalities in malignant hematologic diseases. *Acta Cient Venez* 51:109-114;2000
37. Hermans A, Heisterkamp N, Von Lindern M, et al: Unique fusion of bcr and c-abl genes in Philadelphia chromosome positive acute lymphoblastic leukemia. *Cell* 51:33-40;1987
38. Melo JV: The diversity of BCR-ABL fusion proteins and their relationship to leukemia phenotype. *Blood* 88:2375;1996
39. Paz-y-Miño C: Ecuador. En: Penchaszadeh V, editor. *Medical genetic services in Latin America*, New York, World Health Organization. 1998:14-16.
40. Barletta C, Pelicci P-G, Kenyon LC, Smith SD, Dalla-Favera R: Relationship between c-myb locus and the 6q- chromosomal aberration in leukemias and lymphomas. *Science* 235:1064-1067;1987