

---

Departament de Biologia Animal, de Biologia Vegetal i Ecologia

Estudis de Doctorat en Biodiversitat

Facultat de Biociències

Universitat Autònoma de Barcelona

TESI DOCTORAL

**ESTUDI CITOGENÈTIC DE LES LEUCÈMIES I SÍNDROMES  
MIELODISPLÀSTIQUES EN DIFERENTS ÀREES  
SANITÀRIES DE CATALUNYA: PERÍODE 1990-2009**

**Isabel Granada i Font**

Tesi realitzada sota la direcció de

**Dr. Evarist Feliu i Frasnado, Dr. Francesc Solé i Ristol i**

**Dra. M<sup>a</sup> Rosa Caballín i Fernández**

**Badalona, abril 2014**

---



---

El Dr. Evarist Feliu i Frasnado, Catedràtic de Medicina-Hematologia, Universitat Autònoma de Barcelona, Cap de Servei d'Hematologia Laboratori, Institut Català d'Oncologia,

El Dr. Francesc Solé i Ristol, director de la Plataforma de Citogenètica i Cap de Grup de Recerca en Síndromes Mielodisplàstiques de l'Institut de Recerca Contra la Leucèmia Josep Carreras,

La Dra. M<sup>a</sup> Rosa Caballín i Fernández, Catedràtica del Departament de Biologia Animal, Biologia Vegetal i Ecologia, Universitat Autònoma de Barcelona,

CERTIFIQUEN:

Que na Isabel Granada i Font ha realitzat, sota la seva direcció, el treball *Estudi citogenètic de les leucèmies i síndromes mielodisplàstiques en diferents àrees sanitàries de Catalunya: període 1990-2009* per obtenir el títol de Doctora per la Universitat Autònoma de Barcelona en el programa de doctorat de Biodiversitat.

Aquest treball ha estat realitzat en el Servei d'Hematologia "laboratori" de l'Institut Català d'Oncologia (Badalona), Hospital Germans Trias i Pujol, Universitat Autònoma de Barcelona.

**Dr. Evarist Feliu i Frasnado**

**Dr. Francesc Solé i Ristol**

**Dra. M<sup>a</sup> Rosa Caballín i Fernández**

Badalona, abril 2014





---

# ***AGRAÏMENTS***

---



---

A la meua segona família que ha estat la gent del Servei d'Hematologia

A la Dra. Fuensanta Millá com mestra, companya i defensora sense límits de la seva gent.

Al Dr. Evarist Feliu per la seva paciència i els seus consells, per la seva saviesa, com mestre i com director de la tesi. *TOT A POC A POC*

Al Dr. Josep Maria Ribera com mestre, amic, i per creure en mi, *ENDAVANT PETITA*.

Al Dr. Francesc Solé com mestre i com director de la tesi, pel seu caràcter després, solidari, integrador i defensor del nostre ofici i especialment com amic.

A la Dra. Maria Rosa Caballín com punt de referència en el món de la citogenètica i com directora de la tesi.

Al Dr. Jordi Juncà pels seus coneixements, per la seva exigència i per bon company.

Al Dr. Alonso Flores i al Dr. Javier Roncalés com mestres i companys.

A tots els residents des de l'Eugènia Abella fins als últims que han entrat, sempre han estat uns bons companys d'aprenentatge i d'on han sortit els meus millors amics, Carmen, Dolors, Montse, Tomàs, Esperança, Albert, Juanma, Blanca i Javier i molt especialment l'Eugènia.

A tot l'equip d'infermeria, tècnics, auxiliars i secretàries, des de la Mària fins a la Rosa, passant per la Núria, per ser bones professionals i millors companyes.

El servei s'ha fet gran i no puc oblidar-me dels nouvinguts, tant de la clínica com del laboratori, Christelle, M<sup>a</sup> José, Luz, Olga, Elisa i amb lletres ben grans la Mireia Morgades.

A tota la unitat de Biologia Molecular, Lurdes, Marta, Sílvia, Diana, Jordi i Laura.

Un agraïment molt especial a tota la Unitat de Citogenètica, que sense ella no hauria estat possible aquesta tesi: Alícia Castillo, Marisol Xandri, Tere Herrero, Encarnació Santafé, Carmen Villena, Javier Grau, Neus Ruiz Xivillé, Adela Cisneros i Fuensanta Millá. Per ser més que companys, amics.

A tota la gent del món de la citogenètica de casa i de terra endins.

Als diferents Serveis d'Hematologia que m'han obert les seves portes per poder tirar endavant l'estudi: als Drs Font, Ortín i Dra. Rodríguez de l'hospital Verge de la Cinta de Tortosa, al Dr. Llorente i a la Dra. Escoda de l'hospital Joan XXIII de

---

---

Tarragona, als Drs Gallardo i Guàrdia i a les Dres Fernández, Tuset i Lloveres de l'hospital Josep Trueta de Girona i al Dr. Fernández de Sevilla i la Dra. Montse Arnan de l'ICO Hospitalet i a les Dres Alonso i de la Banda de l'hospital de Bellvitge.

A l'Institut Català d'Oncologia per deixar que ens féssim grans.

I a l'Institut de Recerca Contra la Leucèmia Josep Carreras per confiar en els professionals de la recerca en aquests moments tan difícils.

*PER TOTS ELS MOMENTS MÀGICS QUE HEM PASSAT JUNTS*

A la meva família que m'ha fet créixer i m'ha format per ser qui soc

l'Èrik, el Marc i el Gabi

el Pare i la Mare

els Sogres

el Jordi, l'Esther, la Zora, l'Anouk i la Mylenne

la tieta Angels i el tiet Santi

la tieta M<sup>a</sup> Rosa i el tiet Jaume

tots els meus cosins

i tots els cunyats Obrero



---

# ***FINANÇAMENT***



---

Aquesta tesi doctoral ha estat finançada en part per:

- Beca presidencial de la Fundació Internacional Josep Carreras per la lluita contra la Leucèmia FIJC P/EF (1991 – 1998).

- Beca FIS nº 91/ 0543:

“Estudio citogenético en los síndromes mielodisplásicos: interés diagnóstico, pronóstico y terapéutico”.

TEMPS DE VIGÈNCIA: 1991 - 1992.

- Beca FIS nº 96/ 1332:

“Análisis de la expresión y significado pronóstico de la proteína p53, el antígeno Ki67, la proteína bcl-2 y la ciclina D1 (bcl-1/PRAD1) y estudio citogenético en los linfomas no hodgkinianos de bajo grado de malignidad”.

TEMPS DE VIGÈNCIA: 1996-1998.

- REDES DE GRUPOS

FIS G03/008:

Nuevos estudios inmuno-genotípicos en la clasificación y tratamiento de la leucemia mieloide aguda (LMA) y síndromes mielodisplásicos (SMD).

Neoplasias hematológicas (LMA) y (SMD).

NODO: Hospital Universitari Germans Trias i Pujol.

TEMPS DE VIGÈNCIA: 2003 – 2005.

- REDES DE CENTROS

FIS C03/10:

Genómica del cancer. Genotipado de tumores.

NODO: Hospital Universitari Germans Trias i Pujol – Laboratori d'Hematologia.

TEMPS DE VIGÈNCIA: 2003 – 2005.

- Institut de Recerca Contra la Leucèmia Josep Carreras.





---

## ***MOTIVACIÓ PERSONAL***



---

La presentació d'aquesta tesi, per davant de tot, ha estat un repte personal. Vaig decidir estudiar biologia a l'escola, quan la mestra de ciències naturals, l'Anna Guillamont, ens explicava què era una cèl·lula. Vaig entrar a la universitat i vaig seguir fascinada per la cèl·lula i la seva genètica.

L'Helena, una secretària de l'Hospital Germans Trias i Pujol que em donava classes d'anglès, va intercedir perquè pogués fer unes pràctiques al laboratori d'hematologia de l'hospital. Gràcies a l'interès de la Dra. Fuensanta Millá en incorporar les tècniques més punteres al diagnòstic de les neoplàsies hematològiques, vaig agafar el relleu de la Laura, qui estava posant a punt les tècniques per a l'anàlisi dels cromosomes.

Tot i així, qui em va ensenyar i fer-me enamorar de la citogenètica va ser el Dr. Fancesc Solé, amb la seva capacitat d'ensenyar, de compartir, de fer les coses planeres i d'entusiasmar.

Vaig aprendre citogenètica, però també hematologia amb el Dr. Josep Maria Ribera i la Dra. Fuensanta Millá. Vàrem aconseguir una beca FIS gràcies a l'interès entusiasta per part del Dr. Ribera i de la Dra. Millá per les Síndromes Mielodisplàstiques i l'estudi citogenètic. Des de llavors ha estat una cursa constant on he après molt de tots els companys del servei, tant des del punt de vista acadèmic com personal.

No va trigar en arribar el Dr. Evarist Feliu per ser el nou cap del Servei d'Hematologia. Ell ha estat tenaç i pacient perquè dugués a terme la tesi. Ha costat però ho ha aconseguit.

*US HO DEVIA*



---

## ***MOTIVACIÓ CIENTÍFICA***



---

Des de l'any 1990 la Unitat de Citogenètica del Servei d'Hematologia de l'Hospital Germans Trias i Pujol (HGTIP), ha realitzat estudis citogenètics aplicats al diagnòstic d'hemopaties malignes de pacients diagnosticats a l'àrea sanitària del Barcelonès Nord i Baix Maresme. Al llarg dels anys altres centres han sol·licitat la realització d'estudis citogenètics dels seus pacients, i així doncs, l'any 2001 es comencen a rebre mostres des de l'àrea del Tarragonès (Hospital Joan XXIII) i des de la Regió Sanitària Terres d'Ebre (Hospital Verge de la Cinta de Tortosa). L'any 2003 el Servei d'Hematologia de l'HGTIP s'adscriu a l'Institut Català d'Oncologia (ICO), d'aquesta manera s'inicia la recepció de mostres des de les àrees del Gironès, Pla de l'Estany i Selva Interior (Hospital Josep Trueta), i des de l'Hospitalet i el Prat del Llobregat (Hospital Duran i Reynals).

Les raons que han motivat a l'autora a dur a terme el treball de recerca han estat les següents:

- Durant aquests anys s'han recopilat més de 7000 estudis citogenètics de pacients amb sospita o seguiment de neoplàsia hematològica de quatre regions sanitàries diferenciades geogràficament.
- L'estudi citogenètic ha permès conèixer les característiques del cariotip d'aquells pacients diagnosticats de neoplàsia hematològica: si era alterat o no, i en el cas de que es tractés d'un cariotip alterat, quins cromosomes estaven afectats i si es tractava d'un cariotip complex (amb múltiples anomalies).
- La freqüència de cariotips alterats segons els diferents tipus de neoplàsia hematològica, l'anomalia cromosòmica i la definició de cariotip complex han estat ben estudiats i descrits en la literatura científica. Aquestes dades han permès classificar diferents tipus de leucèmia i de Síndromes Mielodisplàstiques (SMD), i han servit com a eina de diagnòstic, per conferir un pronòstic i en alguns casos per decidir tractaments.
- La Leucèmia Mieloide Crònica (LMC) es caracteritza per presentar la reordenació dels gens *BCR-ABL1*, que en el 95% dels casos es pot visualitzar en el microscopi per una translocació entre els cromosomes 9 i 22 [t(9;22)(q34;q11.2)]. No



---

obstant, entre el 5 i 10% de vegades s'observen translocacions variants [t(v;22)], en les que a més a més dels cromosomes 9 i 22 estan implicats altres cromosomes. Un altre fet que es constata és que la t(9;22)(q34;q11.2) pot anar acompanyada d'altres anomalies citogenètiques, com són la duplicitat del cromosoma Ph, la trisomia del cromosoma 8 o del cromosoma 19, la pèrdua del cromosoma Y o la formació d'un isocromosoma de braços llargs del 17. L'aplicació de la tècnica de FISH ha permès visualitzar microdelecions en el cromosoma 9 derivatiu de la t(9;22)(q34;q11.2), tant en la regió 5' del gen *ABL1* com en la regió 3' del gen *BCR*.

- Tant la Leucèmia Mieloide Aguda (LMA) com la Leucèmia Limfoblàstica Aguda (LLA) es poden diferenciar en dues categories; aquelles en que l'anomalia genètica fa que sigui una entitat pròpia, amb característiques citològiques, de marcadors fenotípics i comportament clínic ben definit, i aquelles leucèmies que es classifiquen segons la citologia i els seus marcadors cel·lulars, sense un cariotip que les defineixi. Els cariotips de les leucèmies, igual que en les SMD, poden presentar una sola anomalia o múltiples alteracions. Sovint els cariotips complexos van associats en el cas de la LMA a formes de leucèmia amb trets displàstics i en general a un mal pronòstic.
- La Leucèmia Limfàtica Crònica (LLC) és una entitat que és difícil d'analitzar a nivell cromosòmic. Mitjançant tècniques convencionals es troben alteracions entre un 40-50% de les mostres a causa del seu baix índex mitòtic i per la dificultat que presenta alhora d'analitzar els cromosomes. Per contra, la tècnica de FISH permet detectar fins a un 82% de casos amb d'anomalies. Les alteracions que s'observen amb més freqüència són la pèrdua d'un fragment del braç llarg del cromosoma 13 (13q14.3) (55%), delecions de 11q22.3 (18%), la trisomia del cromosoma 12 (16%) i delecions de 17p13.1 (7%). Aquestes anomalies poden presentar-se com alteració única o combinades entre elles, essent la delecio 13q14.3 la que es presenta amb més freqüència com anomalia única (66% de les vegades), seguit de la trisomia 12 (42%), la delecio 11q22.3 (33%) i per últim la delecio 17p13.1 (17%). Totes les delecions solen tenir una presentació monoal·lèlica a excepció de la regió 13q14.3 que en el 24% de les

---

vegades és bial·lèlica o concomitant (monoal·lèlica i bial·lèlica).

- Les SMD són un conjunt d'entitats hematològiques, moltes vegades difícils de diagnosticar. El resultat de l'estudi citogenètic ajuda al citòleg a confirmar el seu diagnòstic. Les anomalies que s'observen amb més freqüència són les delecions del braç llarg del cromosoma 5, del cromosoma 7 i del cromosoma 20, trisomia del cromosoma 8, pèrdua del cromosoma 7 o del cromosoma Y. La majoria de les vegades es tracta de cariotips amb una sola anomalia, però d'altres, el cariotip pot presentar més de dues o tres alteracions.

Els estudis citogenètics realitzats al laboratori d'Hematologia de l'HGTIP (ICO Badalona), al llarg dels anys, han fet pensar que s'obtenien més cariotips alterats i complexos segons si la mostra venia d'una regió sanitària o d'una altra.

Amb aquest motiu es va iniciar el treball de recerca que es descriu a continuació com a tesi doctoral, amb l'objectiu d'esbrinar si existien diferències de cariotip entre les diferents regions sanitàries, en les leucèmies i les SMD.



---

# ***ÍNDICE***

---

	<b>Pàgina</b>
<b>Abreviatures</b> .....	26
<b>1. Introducció</b> .....	30
1.1. Epidemiologia de les Leucèmies i Síndromes Mielodisplàstiques.....	32
1.1.1. Incidència .....	32
1.1.2. Etiologia .....	40
1.2. <b>Citogenètica en Leucèmies i Síndromes Mielodisplàstiques</b> .....	44
1.2.1. Generalitats de les Anomalies Cromosòmiques .....	44
1.2.2. Conseqüències de les Alteracions Cromosòmiques en les Neoplàsia Hematològiques .....	45
1.2.2.1. Reordenacions Cromosòmiques .....	45
1.2.2.2. Alteracions Cromosòmiques Desequilibrades .....	50
1.2.3. Leucèmies i Síndromes Mielodisplàstiques .....	54
1.2.3.1. Leucèmia Mieloide Crònica, <i>BCR-ABL1</i> Positiva .....	54
1.2.3.2. Leucèmia Mieloide Aguda .....	60
1.2.3.3. Leucèmia Limfoblàstica Aguda .....	62
1.2.3.4. Leucèmia Limfàtica Crònica.....	66
1.2.3.5. Síndromes Mielodisplàstiques .....	70
<b>2. Hipòtesi</b> .....	76
<b>3. Objectius</b> .....	80
<b>4. Pacients, Material i Mètodes</b> .....	84
4.1. Pacients .....	86
4.2. Material .....	90
4.3. Mètodes .....	91
4.3.1. Tècnica Convencional de Bandes G .....	91
4.3.2. FISH .....	94
4.4. Anàlisi Estadística .....	96

---

---

<b>5.</b>	<b>Resultats</b> .....	98
5.1.	Incidència i tipus d'alteracions cromosòmiques en la Leucèmia Mieloide Crònica .....	100
5.2.	Incidència i tipus d'alteracions cromosòmiques en la Leucèmia Mieloide Aguda .....	108
5.3.	Incidència i tipus d'alteracions cromosòmiques en la Leucèmia Limfoblàstica Aguda .....	128
5.4.	Incidència i tipus d'alteracions cromosòmiques en la Leucèmia Limfàtica Crònica .....	140
5.5.	Incidència i tipus d'alteracions cromosòmiques en la Síndromes Mielodisplàstiques .....	153
<b>6.</b>	<b>Discussió</b> .....	172
6.1.	Característiques Clíniques i d'Incidència de la sèrie .....	174
6.2.	Comparació de la Incidència i tipus d'alteracions cromosòmiques en la Leucèmia Mieloide Crònica .....	183
6.3.	Comparació de la Incidència i tipus d'alteracions cromosòmiques en la Leucèmia Mieloide Aguda .....	184
6.4.	Comparació de la Incidència i tipus d'alteracions cromosòmiques en la Leucèmia Limfoblàstica Aguda .....	186
6.5.	Comparació de la Incidència i tipus d'alteracions cromosòmiques en la Leucèmia Limfàtica Crònica .....	188
6.6.	Comparació de la Incidència i tipus d'alteracions cromosòmiques en la Síndromes Mielodisplàstiques .....	190
<b>7.</b>	<b>Conclusions</b> .....	196
<b>8.</b>	<b>Bibliografia</b> .....	200

---



---

## ***ABREVIATURES***





---

<i>ABL1</i>	c-abl oncogene 1, non-receptor tyrosine kinase
ADN	Àcid Desoxiribonucleic
AR	Anèmia Refractària
AREB	Anèmia Refractària amb Excés de Blastos
ARN	Àcid Ribonucleic
ARS	Anèmia Refractària amb Sideroblastes en anell
<i>BCR</i>	<i>Breakpoint Cluster Region</i> , Clúster de punts de trencament
CALGB	<i>Cancer and Leukemia Group B</i>
CB	Crisi Blàstica
CGH	Comparative Genomic Hybridization. <i>Hibridació Genòmica Comparada</i>
CRDM	Citopènia Refractària amb Displàsia Multilínia
FA	Fase Accelerada de la LMC
FC	Fase Crònica de la LMC
FISH	Fluorescence In Situ Hybridization, Hibridació <i>In Situ</i> Fluorescent
GTS	Govern Territorial de Salut
HDiR	Hospital Duran i Reynals
HGTIP	Hospital Germans Trias i Pujol
HJT	Hospital Josep Trueta
HJXXIII	Hospital Joan XXIII
HVC	Hospital Verge de la Cinta
ICD-O-3	<i>International Classification of Diseases for Oncology</i>
ICO	Institut Català d'Oncologia
ISCN	<i>International System of Cytogenetic Nomenclature</i>
LA	Leucèmia Aguda
LLA	Leucèmia Limfoblàstica Aguda
LLC	Leucèmia Limfocítica Crònica
LMA	Leucèmia Mieloide Aguda
LMC	Leucèmia Mieloide Crònica
M-BCR	Major-BCR, Regió de punts de trencament més freqüent
MO	Medul·la Òssia
MPO	Mieloperoxidasa
MRC	<i>Medical Research Council trials United Kingdom</i>
NMP	Neoplàsia Mieloproliferativa
OMS	Organització Mundial de la Salut
PCR	Polymerase Chain Reaction
PETHEMA	<i>Programa para el Estudio de la Terapéutica en Hemopatía Maligna</i>
Ph'	Philadelphia
SMD	Síndromes Mielodisplàstiques
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphisms</i> .
SP	Sang Perifèrica
SWOG	<i>Southwest Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group study</i>
TPA	phorbol 12-myristate 13-acetate

---



---

## ***1.- INTRODUCCIÓ***



---

## 1.1. Epidemiologia de les Leucèmies i Síndromes Mielodislàstiques

Les hemopaties malignes formen un grup de malalties heterogènies que es diferencien per la seva diversitat respecte la incidència, la seva etiologia i el seu pronòstic. Factors genètics, socio-econòmics, estil de vida, agents ocupacionals, medi ambientals o infeccions han estat identificats com a factors de risc per a desenvolupar una leucèmia o una síndrome mielodislàstica (SMD).

### 1.1.1. Incidència

Les leucèmies són l'onzena neoplàsia més freqüent en el món en el cas de les dones i el novè en el cas dels homes (figura 1). La seva distribució arreu del món varia segons el país i el grau de desenvolupament d'aquest: entre els països desenvolupats s'observa una taxa crua d'incidència<sup>a</sup> entre 8 i 14,8 casos nous per cada 100.000 habitants a l'any, en el cas d'Europa entre 8 i 13, i en el cas de Nord Amèrica i Austràlia entre 14,2 i 14,8. Per contra, en els països en vies de desenvolupament com són el sud i part central d'Amèrica, s'observa una incidència entre 4,6 i 5,5 per cada 100.000 habitants a l'any semblant a l'Àsia de l'est, de l'oest i del Pacífic (4,3 – 5,5), i finalment, entre els països menys desenvolupats ens trobem amb unes taxes bastant inferiors entre 1,6 i 2,9 per cada 100.000 habitants a l'any (Àsia central, sud d'Àsia i Àfrica en general) (figura 1 - 2).

**Figura 1. Estimació de la taxa estandarditzada per edat (ASR)<sup>b</sup> per 100.000 habitants i any per sexe, entre els 20 càncers més freqüents en els països desenvolupats i en expansió.**

---

<sup>a</sup>Taxa crua d'incidència: és el nombre de nous casos d'una hemopatia observats durant un període de temps.

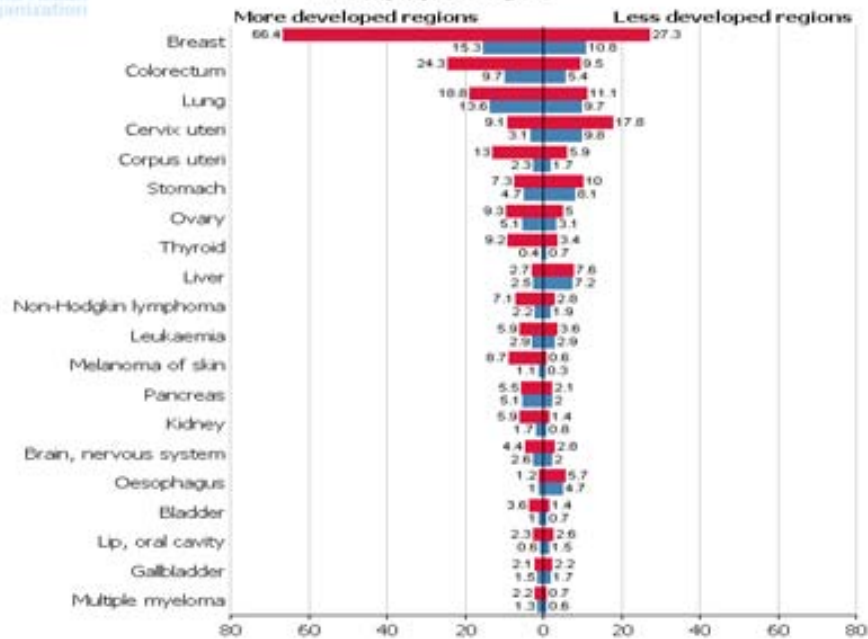
<sup>b</sup>Taxa d'incidència estandarditzada per edat: taxa crua d'incidència que tindria la població si la seva distribució per edat fos igual a la de la població amb la qual s'està comparant la incidència.

International Agency for Research on Cancer



**Women**

**ASR (W), all ages**



GLOBOCAN 2008 (IARC) (11.10.2011)

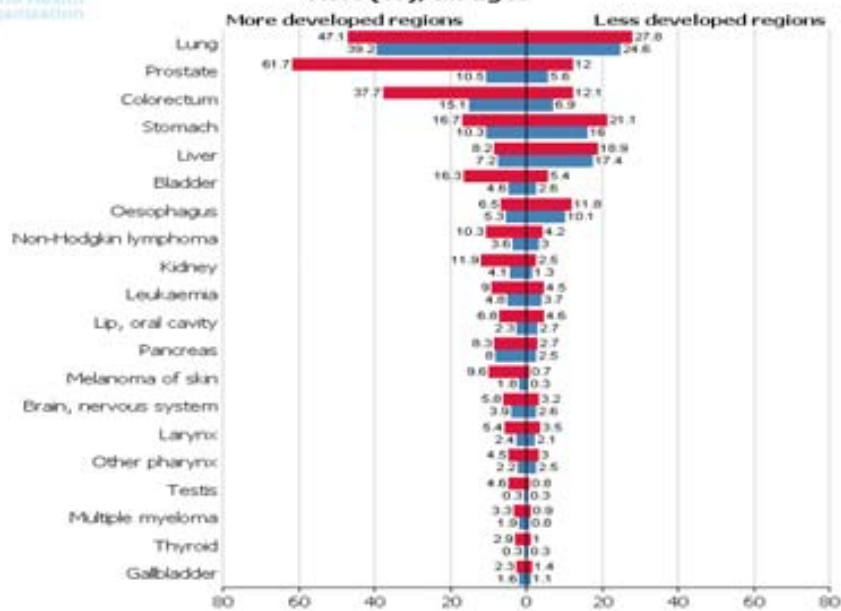
■ Incidence  
■ Mortality

International Agency for Research on Cancer



**Men**

**ASR (W), all ages**



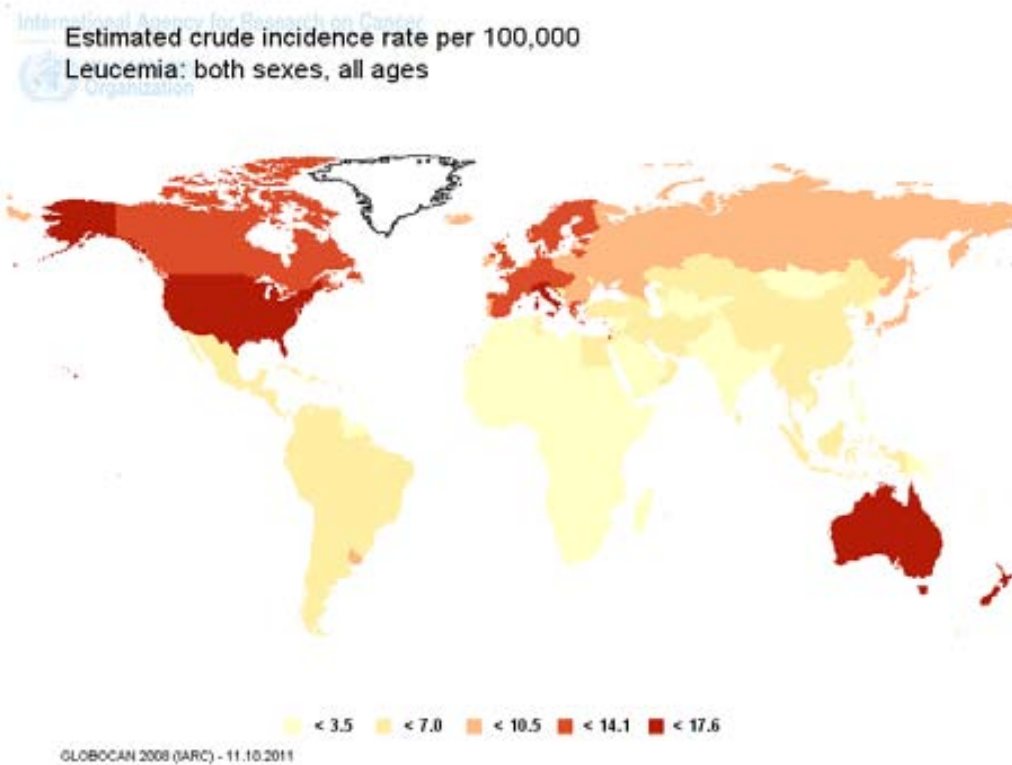
GLOBOCAN 2008 (IARC) (11.10.2011)

■ Incidence  
■ Mortality

Imatge treta de <http://globocan.iarc.fr>

---

**Figura 2. Estimació de les taxes crues d'incidència de les leucèmies per 100.000 habitants i any, per a totes les edats i els dos sexes: s'ha dividit i assignat un color en 5 agrupacions tenint en compte el rang total de valors: les cinc agrupacions s'han calculat agafant la diferència entre el màxim i el mínim i dividint en cinc anys.**



Imatge treta de <http://globocan.iarc.fr>

Fins a l'actualitat, ha estat difícil trobar taxes d'incidències reals en els diferents tipus de leucèmies. La majoria d'estudis poblacionals d'hemopaties malignes estan agrupats segons si són limfoma de Hodgkin vs no Hodgkin, hemopatia aguda vs crònica o hemopatia limfoide vs mieloide. Això es deu als canvis constants dels sistemes de classificació.

Des de la introducció de les SMD en la classificació de l'OMS (2001) (Jaffe, International Agency for Research on Cancer et al. 2001) llavors considerada per primera vegada com una malaltia clonal, fins a l'actual classificació basada en les diferents eines de diagnòstic, com la citologia, l'immunofenotip i la genètica, s'han perfilat i classificat 145 entitats de neoplàsia hematològica (Swerdlow, International



---

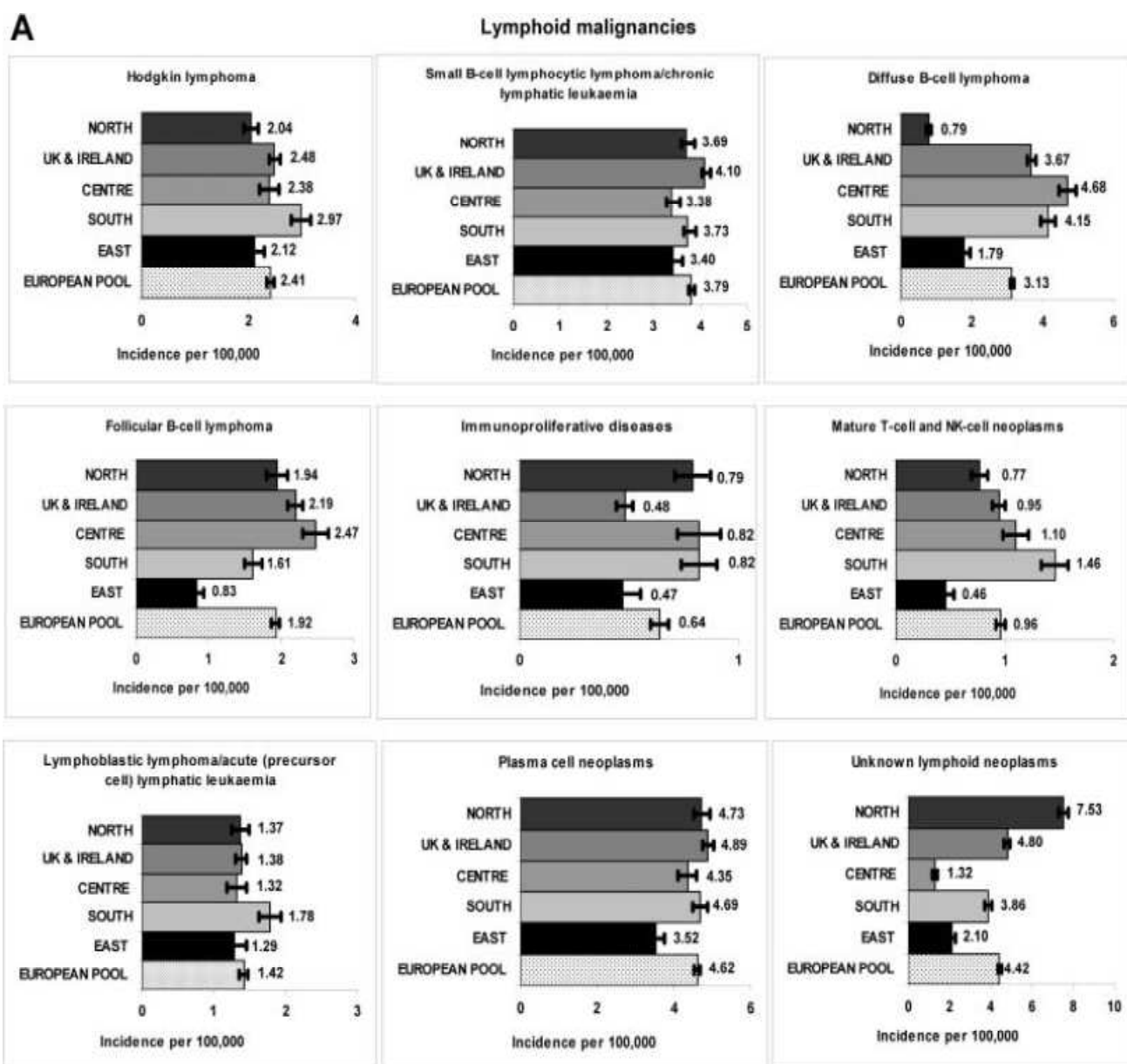
Agency for Research on Cancer 2008) . El consens entre especialistes ha permès crear millors registres i poder comparar els diferents tipus de leucèmies. Existeixen dos grans programes, “the Surveillance, Epidemiology and End Results program” (SEER) (<http://seer.cancer.gov>) liderat per “US National Cancer Institute” (NCI) i el “Cancer Registry based project on Haematologic Malignancies” (HAEMACARE) (<http://www.haemacare.eu>) finançat per la Unió Europea, i la col·laboració dels registres europeus del càncer. Tot i així en el projecte europeu hi ha representat tan sols un 30% de la població europea (anys 2000 i 2002) (Sant, Allemani et al. 2010) . En general es troben resultats semblants entre els dos projectes: les hemopaties limfoides són més freqüents que les mieloides, amb dues la seva incidència incrementa constantment amb l’edat excepte per la leucèmia limfoblàstica aguda (LLA) i són més freqüents en l’home que en la dona (Matasar, Ritchie et al. 2006, Yamamoto, Goodman 2008, Sant, Allemani et al. 2010).

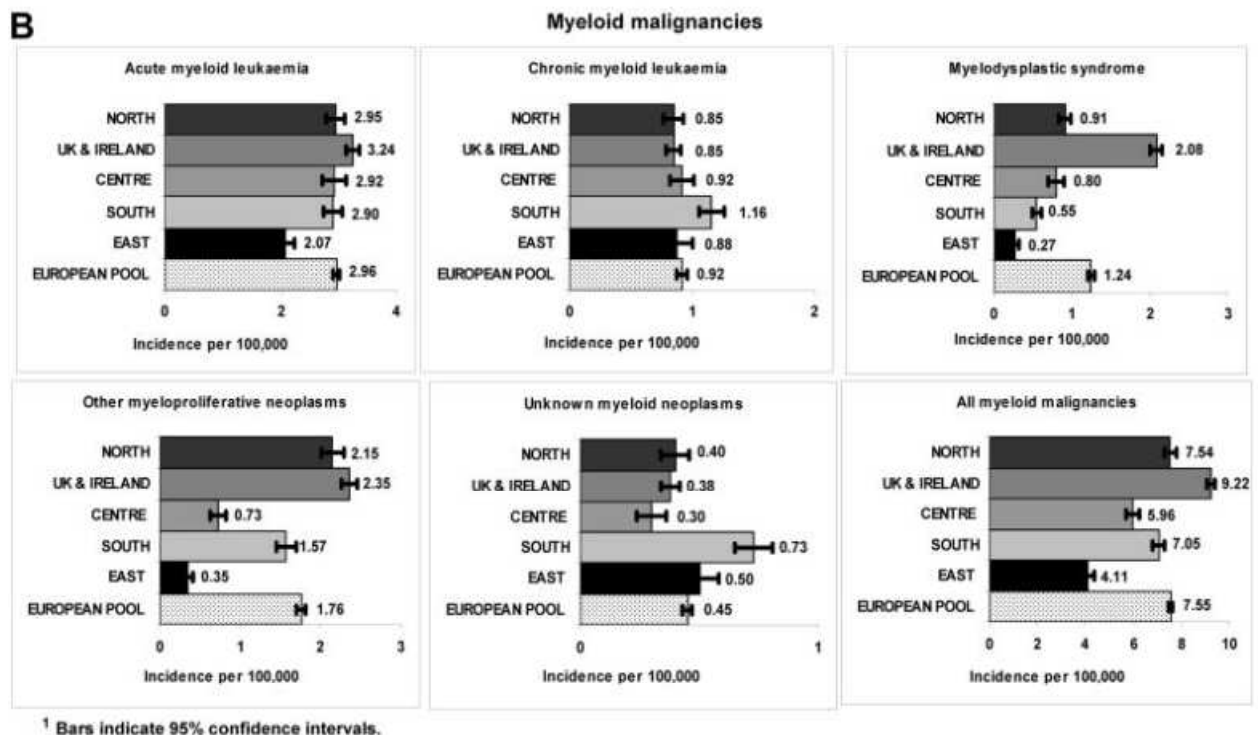
En el programa SEER observen que les taxes d’incidència estandarditzades per edat (ASR) (per 100.000 i any) per totes les hemopaties limfoides són més altes en els Estats Units (EEUU) que les trobades a Europa (33,42 vs 24,50), amb grans diferències en el limfoma difús de cèl·lula gran B (6,80 vs 3,13) i la leucèmia limfàtica crònica (LLC/SBLL) (5,10 vs 3,79). Per contra, a les hemopaties mieloides no hi ha tanta diferència (7,55 vs 6,63): per la LMA hi ha unes taxes de ASR de 3,93 a EEUU vs 2,96 a Europa i per la LMC 1,72 vs 0,92. Respecte les SMD la seva incidència és bastant més elevada a EEUU que a Europa (3,48 vs 1,24), fet que ve justificat per la baixa aportació dels casos de SMD en alguns dels centres de registre europeus, sobretot en països de la part de l’est d’Europa. Les SMD han estat considerades no malignes fins el 2001, afecten principalment a gent gran i segons criteris propis de cada país o per pocs recursos econòmics aquests casos no estan reportats. Per tant una causa de la possible diferència entre Europa i EEUU, o entre països Europeus podria ser per la diferent taxa de diagnòstic (Matasar, Ritchie et al. 2006, Yamamoto, Goodman 2008, Sant, Allemani et al. 2010, Visser, Trama et al. 2012) . La baixa incidència d’hemopatia a l’Europa de l’est coincideix amb les dades publicades per la base de dades GLOBOCAN “Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide” (<http://globocan.iarc.fr>) i, com s’ha dit, es veuen

---

justificats per la no aportació de les dades en els registres d'aquells pacients diagnosticats d'hemopaties en edats avançades (figura 3) (Sant, Allemani et al. 2010).

**Figura 3. Taxes d'incidència estandaritzades per grup d'edat (per 100.000 habitants i any) i tipus d'hemopatia durant els anys 2000-2002, segons les dades de 44 registres del càncer Europeus (HAEMACARE): (A) hemopatia limfoide, (B) hemopatia mieloide (Sant, Allemani et al. 2010).**

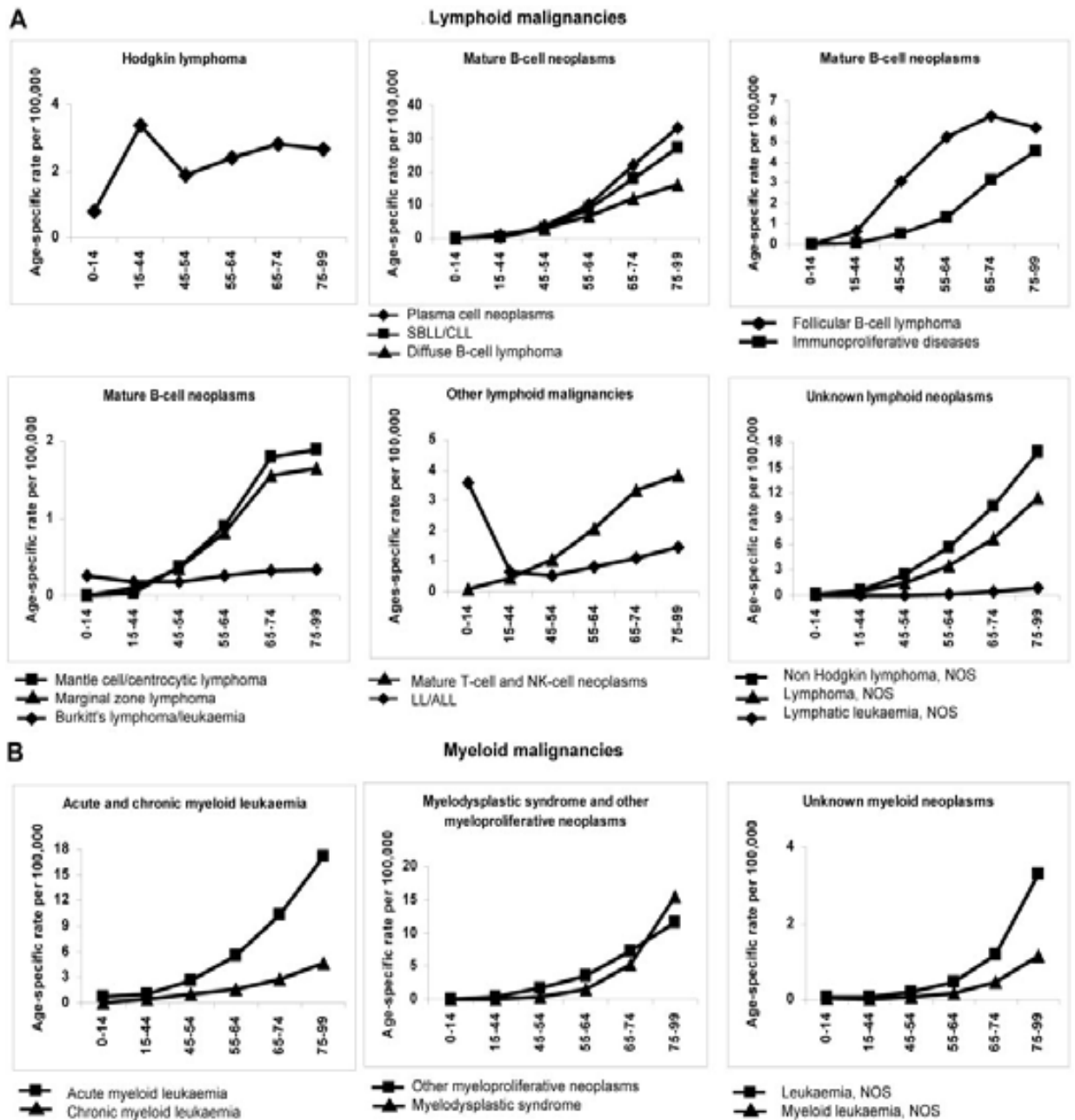




Imatge trenta de Sant et al. (2010)

Per les hemopaties en general, com succeeix amb els tumors sòlids, l'acumulació de danys en l'ADN i la disminució de la resposta immunitària amb l'edat, suggereix que siguin la causa de l'augment de la incidència de les hemopaties en la població d'edat avançada, a excepció de la LLA, que té el pic màxim d'incidència entre els 0 i els 14 anys. La LLA ha estat relacionada a factors de risc com són l'exposició a camps electromagnètics, o l'exposició a benzè i altres hidrocarburs originats durant el tràfic rodat, que han afectat durant la vida intrauterina i durant la infantesa, mitjançant la seva resposta a antígens en la vida prenatal o primerenca (Steffen, Auclerc et al. 2004, Weng, Tsai et al. 2008, Brosselin, Rudant et al. 2009, Weng, Tsai et al. 2009, Rudant, Clavel et al. 2010, Keegan, Bunch et al. 2012) . Igualment pares fumadors han estat significativament associats a nens amb LLA, limfoma de Burkitt i leucèmia mieloide aguda (LMA) (Rudant, Menegaux et al. 2008) (figura 4).

Figura 4. Taxes d'incidència específiques per grups d'edat<sup>c</sup> (per 100.000 habitants i any) i tipus d'hemopatia durant els anys 2000-2002, segons les dades de 44 registres de càncer Europeus (HAEMACARE): (A) hemopatia limfoide, (B) hemopatia mieloide.



Imatge treta de Sant et al. (2010)

<sup>c</sup> Taxa d'incidència específica per grup d'edat: nous casos diagnosticats en un període determinat per franges d'edat definides.

La incidència de les hemopaties malignes és en general més baixa en les dones que en els homes (Yamamoto, Goodman 2008, Cook, Dawsey et al. 2009, Ferlay, Parkin et al. 2010, Sant, Allemani et al. 2010) . Aquest fet és ben conegut i pot ser en part per l'exposició inferior a factors de risc ocupacionals i medi ambientals en el cas de les dones. Així doncs, si considerem el risc incrementat de neoplàsia limfoide i mieloide en agricultors exposats a pesticides i herbicides (Merhi, Raynal et al. 2007) , en treballadors de la indústria que utilitzen formaldehids (Beane Freeman, Blair et al. 2009) , i aquells exposats a dioxines (Pesatori, Consonni et al. 2009) s'observa que la majoria de treballadors en aquests sectors són homes. L'alta prevalença de fumadors i consumidors d'alcohol també podria contribuir en l'alta incidència de totes les hemopaties en general en el sexe masculí (Battaglioli, Gorini et al. 2006, Gorini, Stagnaro et al. 2007, Geyer, Morton et al. 2010) . S'ha hipotetitzat que hi ha un mecanisme universal en l'home que fa que sigui més susceptible als factors de risc, com a conseqüència de diferències hormonals i genètiques entre els dos sexes (Cook, Dawsey et al. 2009, Costas, Casabonne et al. 2012) .

També s'han realitzat estudis segons l'població<sup>d</sup>, en la població nord americana s'ha observat que les leucèmies que són més freqüents en l'adult, LMA, leucèmia mieloide crònica (LMC) i LLC, la població hispànica presenta unes taxes d'incidència inferiors a la de la població no hispànica caucàsica o fins i tot a la de la població d'origen africà (LMA i LLC). Per contra, els nens hispànics presenten unes taxes d'incidència molt més elevades de LLA que la resta de població nord americana. Aquestes dades han de ser valorades dintre del context socio-econòmic, com en el cas de la LLC, una malaltia sovint indolent i que es diagnostica moltes vegades com una troballa casual; la població d'origen africà i hispànica tenen menys recursos i menys accés a serveis sanitaris, aquest fet podria justificar la freqüència més alta en la població caucàsica no hispànica (Matasar, Ritchie et al. 2006, Yamamoto, Goodman 2008) . Tot i així la LLC es la leucèmia amb la taxa d'incidència més alta en el món occidental i per contra en els països asiàtics és un tipus de leucèmia poc

---

<sup>d</sup>Població: comunitat humana definida per criteris culturals o lingüístics.

---

freqüent, aquest fet suggereix l'existència d'una predisposició de base genètica diferent entre poblacions (Shvidel, Shtarlid et al. 1998, Ruchlemer, Polliack 2013) .

## 1.2. Etiologia

Les leucèmies i les SMD són malalties que es donen com a resultat de la interacció entre el medi ambient, el genoma, epigenoma i proteoma (figura 5).

### Factors endògens

S'ha postulat que el càncer ha d'exhibir un fenotip mutador (mutacions en diferents gens que normalment funcionen per mantenir la integritat genètica) ja que hi ha una diferència gran entre la baixa freqüència de mutacions espontànies i el gran nombre de mutacions trobades en els tumors: gens candidats serien els gens de l'ADN polimerases<sup>e</sup>, els gens de reparació de l'ADN o els gens involucrats en la segregació cromosòmica<sup>f</sup> (Minamoto, Mai et al. 1999, Jackson 2002) .

**Mutacions germinals<sup>g</sup>:** constitueixen la base de la predisposició d'una persona donada a un determinat tipus de càncer. Els amplis esforços per identificar els gens del càncer a través d'anàlisis genètiques i la seva vinculació, i les dades acumulades del projecte del genoma humà ens han proporcionat una creixent llista de gens que estan mutats en la línia germinal. Fins al moment, les mutacions de línia germinal trobades en més de 20 gens diferents han estat reportades com a trets hereditaris que incrementen la susceptibilitat al càncer. Entre ells es troben les mutacions germinals del gen *PAX5* en la LLA (Okamoto, Ogawa et al. 2010) . Les persones amb antecedents familiars (càncer familiar de mama o la síndrome de Li Fraumeni) o aquelles que tenen segones neoplàsies malignes sovint presenten mutacions en la línia germinal.

**Polimorfismes<sup>h</sup> en els gens:** El polimorfisme d'un gen es deu a mutacions esporàdiques com a conseqüència de processos exògens i endògens. En la

---

<sup>e</sup>ADN polimerases: proteïna enzimàtica encarregada de duplicar les cadenes d'ADN durant la replicació. Les ADN polimerases catalitzen la polimerització dels dNTPs (desoxirribonucleòtids) juntament amb una cadena d'ADN que actua de plantilla durant la replicació de l'ADN.

<sup>f</sup>Segregació cromosòmica: separació dels dos membres de cada parella de cromosomes homòlegs durant la meiosi/mitosi.

<sup>g</sup>Mutació germinal: mutació que afecta a la línia germinal que pot ser transmesa pels gàmetes a la descendència, i per tant, perpetuar-se a la població.

<sup>h</sup> Polimorfisme genètic: variació en la seqüència de nucleòtids del genoma.

majoria dels casos són mutacions degudes a canvis menors en la seqüència de nucleòtids de la regió codificant, així com també en la regió 5' o 3', i són suficients per alterar l'expressió o l'estabilitat, tant de l'ARN com a nivell de proteïna. Els principals polimorfismes funcionals estudiats han estat d'aquells gens que codifiquen per a enzims associats amb la regulació redox (reacció de reducció-oxidació)<sup>i</sup> i la desintoxicació, com és el cas del glutatió S-la transferasa i dels isoenzims del citocrom P450 (Ye, Song 2005, Dahabreh, Giannouli et al. 2010).

### **Factors exògens:**

Els factors de risc coneguts que juguen un rol important en la etiologia de les leucèmies i les SMD són: l'exposició a radiacions ionitzants, les infeccions virals, el benzè, i altres carcinògens químics emprats en tractaments quimioteràpics com són els agents alquilants (Bizzozero, Johnson et al. 1966, Cooper, Kamel et al. 1996, Pobel, Viel 1997, Kayser, Dohner et al. 2011, Metz-Flamant, Samson et al. 2012, Schnatter, Glass et al. 2012, Morton, Dores et al. 2013, Parodi, Crosignani et al. 2013). En part l'exposició a factors de risc medi ambiental va lligat a l'estil de vida i a la professió de cada un dels individus, com el fet de fumar, el consum de greixos o l'estrès (Terry, Shore et al. 2005, Gorini, Stagnaro et al. 2007, Geyer, Morton et al. 2010). Per un altre cantó, la ingesta de fibra, antioxidants i l'exercici redueix cert risc a desenvolupar càncer (Minamoto, Mai et al. 1999, Yamamura, Oum et al. 2013). La influència de l'estil de vida i ocupació laboral i del medi ambient fa que es trobin diferències entre poblacions i entre regions geogràfiques (Pukkala, Martinsen et al. 2009, Heyn, Moran et al. 2013, Heyn, Moran et al. 2013).

**Carcinògens químics i físics:** els carcinògens són freqüentment capaços de provocar canvis tant genètics i epigenètics i es poden dividir en dos grups: agents que danyen l'ADN i que indueixen mutacions somàtiques, i canvis

---

<sup>i</sup> Reacció redox: reacció química en la qual hi ha una transferència electrònica entre els reactius, donant lloc a un canvi en els seus estats d'oxidació pel que fa als productes. El metabolisme implica centenars de reaccions redox. Així, el catabolisme ho constitueixen reaccions en què els substrats s'oxiden i els coenzims es redueixen. Per contra, les reaccions de l'anabolisme són reaccions en què els substrats es redueixen i els coenzims s'oxiden. En el seu conjunt, catabolisme i anabolisme constitueixen el metabolisme.

---

post transduccionals que afecten la conformació i / o l'activitat de les proteïnes claus reguladores del cicle cel·lular.

Els canvis en el primer grup (és a dir, les mutacions somàtiques) són permanents, mentre que els del segon grup (post-transduccional) són transitòries, com a conseqüència de la limitada vida útil d'una proteïna donada. Tots dos tipus poden alterar el creixement o mort cel·lular.

Existeixen diferents tractats on hi consten llistats d'agents carcinogènics basats en estudis poblacionals. Segons el "*Cancer Working of the Collaborative on Health and the Environment*"(UnivMassachusetts) (Clapp, Jacobs et al. 2008) els agents ocupacionals i medi ambientals més relacionats amb l'origen de les leucèmies són:

- Radiacions ionitzants.
- Butadiè present en la indústria i maneig de gomes, òxid d'etilè que és utilitzat com a esterilitzant, desinfectant i pesticida i com a matèria primera en la fabricació de resines, pel·lícules i anticongelants.
- Metalls i dioxines
- Benzè que s'utilitza com a intermediari en els productes del plàstic, resines i algunes fibres sintètiques i del niló, també utilitzat per a fabricar algunes classes de gomes, lubricants, detergents, fàrmacs, pesticides i colorants. També es troba en el petroli, benzina i en el fum de les cigarretes.

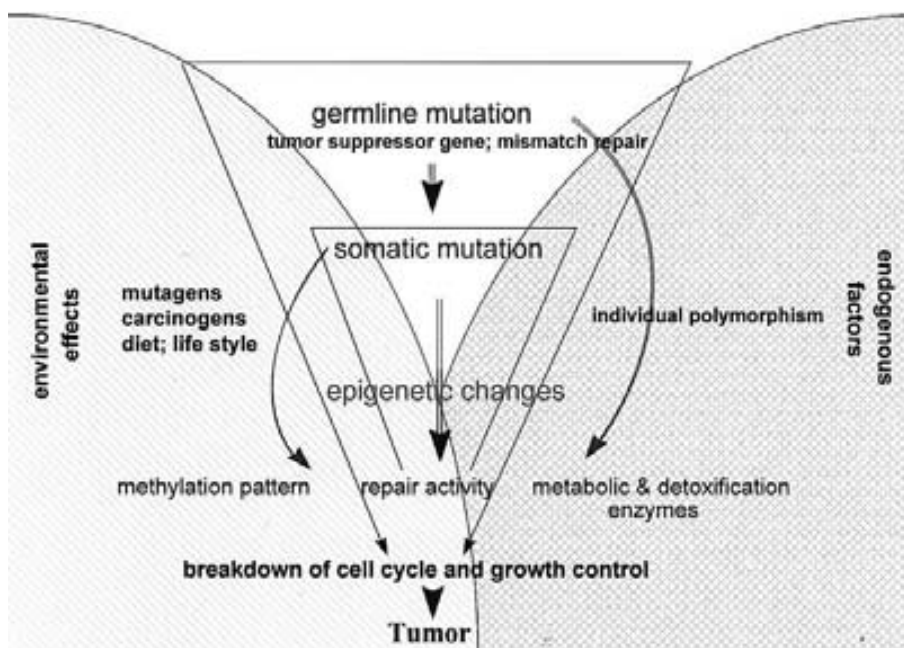
Existeixen altres productes amb indicis de ser factors de risc carcinogènic: pesticides en general (Merhi, Raynal et al. 2007), radiacions no ionitzants (Cooke, Laing et al. 2010) , diòxid de nitrògen que es troba en la contaminació pel tràfic rodat (Weng, Tsai et al. 2008, Weng, Tsai et al. 2009), formaldehid utilitzat en la fabricació de desinfectants i conservants (Beane Freeman, Blair et al. 2009) i els tinys en les perruqueries (Clapp, Jacobs et al. 2008) .

**Infeccions i malalties autoimmunes:** Les infeccions víriques en nens (xarampió), particularment quan l'exposició és abans dels 6 anys, estan lligades a desenvolupar una leucèmia en l'etapa adulta (Cooper, Kamel et al. 1996, Parodi, Crosignani et al. 2013) . Aquestes troballes suggereixen que



certes condicions immunitàries podrien ser un desencadenant per el desenvolupament de la leucèmia. Els mecanismes podrien deure's a una predisposició genètica o a un efecte del tractament de la infecció o la pròpia malaltia autoimmunitària (Landgren, Gridley et al. 2007) .

**Figura 5. Esquema de la interacció entre factors endògens i exògens en la leucemogènesi:** la leucemogènesi es produeix per interacció entre les mutacions en gens de la línia germinal (dona un risc o predisposició a desenvolupar una leucèmia), factors medi ambientals i les seves diferents dianes cel·lulars tant en el genoma, en l'epigenoma com del proteoma.



Imatge treta de Minamoto et al (1999) (Minamoto, Mai et al. 1999)

Factors interns i/o externs provoquen alteracions genètiques que interfereixen en l'equilibri normal de la proliferació cel·lular, supervivència i diferenciació, originant la leucèmia o les SMD. Moltes d'aquestes alteracions es fan evidents amb les anomalies cromosòmiques.

---

## 1.2. Citogenètica en Leucèmies i Síndromes Mielodisplàstiques

### 1.2.1. Generalitats de les Anomalies Cromosòmiques

Fa 50 anys que Nowell i Hungerford van descriure un cromosoma petit detectat en cultius de medul·la òssia de pacients amb LMC que es va anomenar cromosoma Filadèlfia (Ph'). L'any 1970 Prieto et al van definir que aquest cromosoma corresponia al cromosoma 22, i a l'any 1973 Rowley et al, amb tècniques de bandeig cromosòmic (bandes G), van observar que era resultat de la translocació entre els cromosoma 9 i 22 [t(9;22)(q34;q11.2)]. El descobriment del cromosoma Ph' va marcar l'inici de la citogenètica de les neoplàsies hematològiques. Posteriorment, es van identificar altres alteracions, com la t(8;14)(q24;q32) en el limfoma de Burkitt o la t(15;17)(q22;q12) en la leucèmia promielocítica aguda. A partir d'aquest moment, l'anàlisi citogenètica va adquirir una gran importància en l'estudi de les neoplàsies i, sobretot, de les hemopaties malignes. Els avenços registrats en aquest camp, complementats amb les tècniques d'hibridació *in situ* per fluorescència (FISH) o més recentment l'aplicació de plataformes de matrius de CGH/SNP (*comparative genomic hybridization/single nucleotide polymorphisms*), han permès identificar subgrups clínics associats amb canvis cromosòmics específics i, en moltes ocasions, els gens implicats. Les anomalies cromosòmiques han estat i continuen sent de gran utilitat per diagnosticar la malaltia, en el seu seguiment, en el pronòstic i, en casos concrets, permeten oferir al pacient un tractament específic en funció del canvi genètic. Per aquest motiu, en l'actualitat, és impensable abordar el diagnòstic d'una neoplàsia hematològica sense realitzar l'estudi citogenètic. Cal una estreta col·laboració entre els citogenetistes, els hematòlegs i altres professionals implicats en el diagnòstic, per a interpretar el significat i el valor del canvi cromosòmic trobat en un pacient (Hernandez, Granada et al. 2011) .

La citogenètica convencional es basa en la visualització dels cromosomes segons el patró de bandes G per a la realització del cariotip. Comporta un cultiu cel·lular i

l'obtenció de metafases. Aquesta tècnica proporciona una visió global del genoma i permet detectar alteracions cromosòmiques numèriques i estructurals. No obstant això, entre les seves principals limitacions cal destacar la dificultat en l'obtenció de metafases de les cèl·lules neoplàsiques i la seva baixa resolució, que no permet la detecció d'alteracions genètiques que afectin a regions de tamany inferior a 10 Mb. La tècnica de FISH permet detectar i localitzar seqüències específiques d'àcids nucleics (ADN o ARN) sobre preparacions cromosòmiques, frotis de medulla òssia o de sang, i en empremtes de teixit com pot ser de gangli, com també sobre talls de teixits que han estat parafinats. És un complement de la citogenètica convencional que supleix part de les seves limitacions.

## 1.2.2. Conseqüències de les Alteracions Cromosòmiques en les Neoplàsies Hematològiques

### 1.2.2.1. Reordenacions Cromosòmiques<sup>j</sup>

Les translocacions, inversions i insercions són anomalies que es troben amb freqüència en les leucèmies, i hi ha evidències que algunes d'aquestes són esdeveniments primerencs en la leucemogènesi (reordenacions del gen *MLL* en nens diagnosticats de LLA)

Com a conseqüència d'una reordenació cromosòmica pot esdevenir: I.- una anomalia que acaba formant un gen de fusió, per la fusió de dos gens, amb una activitat anòmala per el funcionament correcte de la cèl·lula (més freqüents en LLA, LMA i LMC). La formació d'un gen de fusió dona lloc a l'expressió d'una proteïna quimèrica amb una activitat nova o modificada. En la majoria dels casos, només un dels dos gens fusionats presenta una funció aberrant que contribueix a la patogènesi de la leucèmia. II.- o una alteració que provoqui una desregulació de l'expressió d'un gen per la juxtaposició d'un gen intacte davant del promotor d'un altre gen (més freqüent en els limfomes) (figura 6).

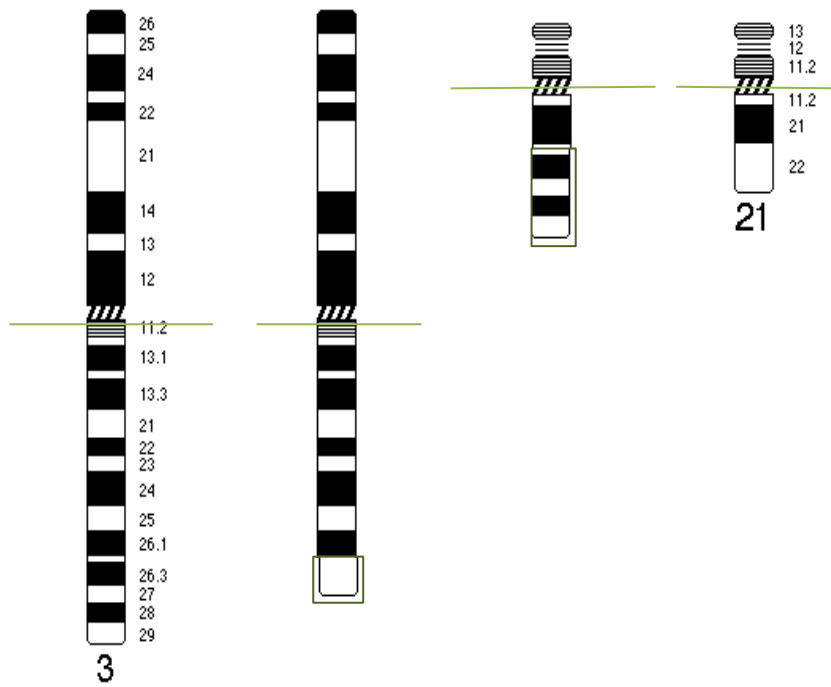
**Figura 6. Esquema de les reordenacions cromosòmiques principals que s'observen en la leucèmia: A.- translocació; intercanvi de material cromosòmic entre dos o més**

<sup>j</sup> Reordenacions cromosòmiques: intercanvi de material cromosòmic entre cromosomes diferents o dintre del mateix cromosoma.

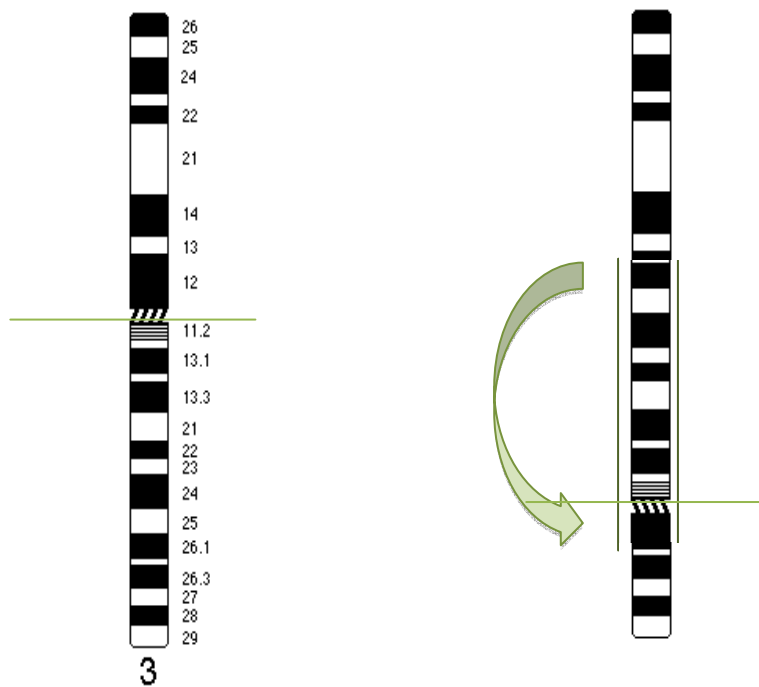
---

cromosomes. **B.**- inversió pericèntrica; gir de  $180^\circ$  d'una regió de cromosoma on sempre implica el centròmer. **C.**- inversió paracèntrica; gir de  $180^\circ$  d'una regió de cromosoma en un dels seus braços. **D.**- inserció; regió d'un cromosoma que s'insereix en una regió d'un altre cromosoma.

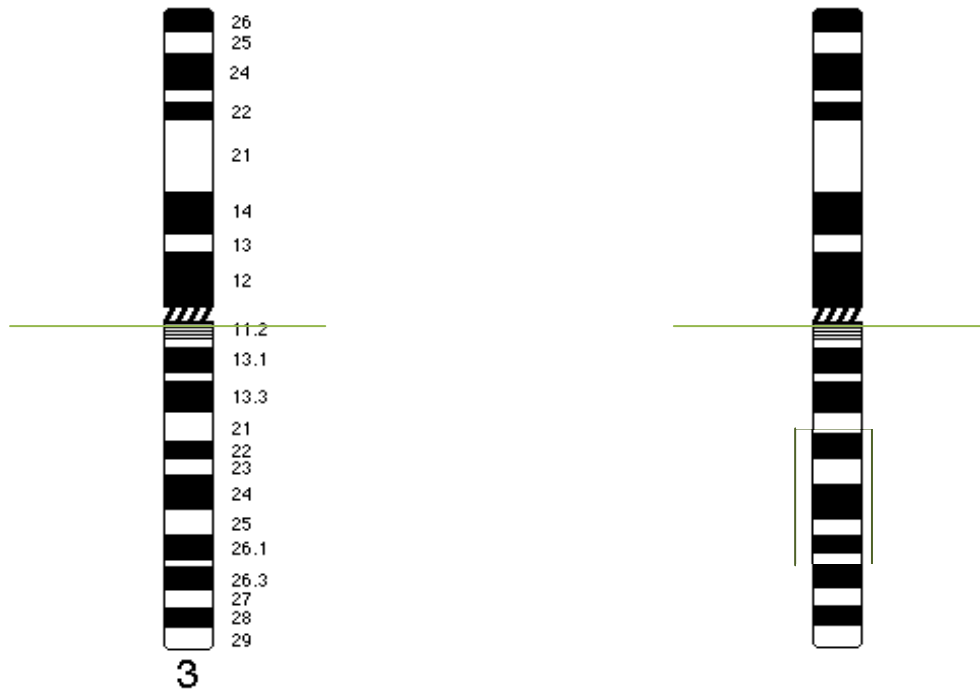
**A.-** Translocació:  $t(3;21)(q26.2;q22.1)$ , present en leucèmies relacionades amb tractaments previs



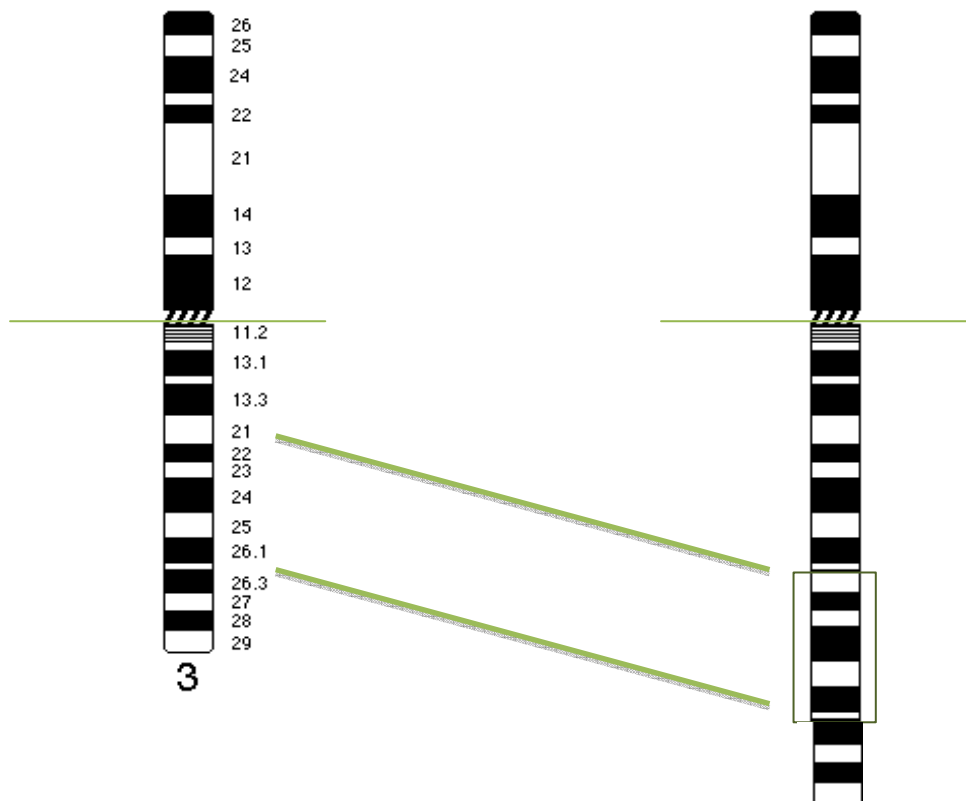
**B.-** Inversió pericèntrica:  $inv(3)(p12q26)$



C.- Inversió paracèntrica:  $inv(3)(p21q26)$ , LMA amb reordenació dels gens *RPN1-EVI1*

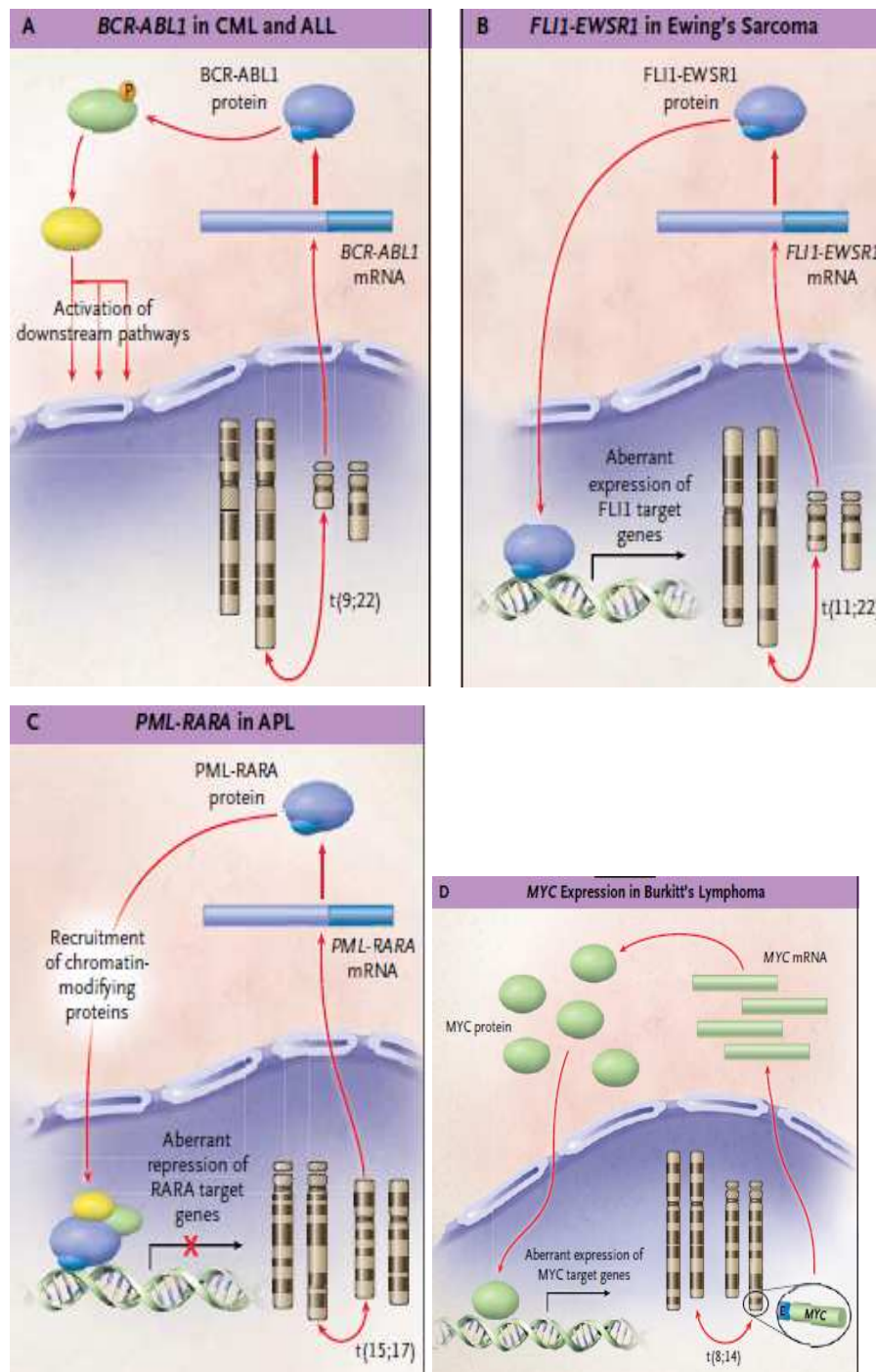


D.- Inserció:  $ins(3;3)(q26;q21q26)$ , LMA amb reordenació dels gens *RPN1-EVI1*



Les conseqüències funcionals de les diferents reordenacions cromosòmiques quan s'ha format un gen de fusió poden conduir a: I. l'expressió d'una proteïna quimèrica amb activitat constitutiva de tirosina cinasa: la proteïna transfereix un grup fosfat a un residu de tirosina d'una proteïna, la fosforilació és una funció important de la transducció de senyals que regulen l'activitat enzimàtica. Les tirosines cinases tenen funcions mediadores de la regulació del cicle cel·lular i per tant provoquen un trastorn proliferatiu clonal. II. l'expressió d'una proteïna quimèrica que provoca una activitat transcripcional aberrant, III. o l'expressió d'una proteïna quimèrica que intervé en la repressió de la transcripció mitjançant el reclutament de proteïnes que modifiquen la cromatina. Per altra banda existeixen reordenacions cromosòmiques que juxtaposen elements reguladors específics, com són els promotors de gens a les seqüències codificadores d'oncogens. Aquest tipus d'anomalia es dona en el limfoma de Burkitt amb la  $t(8;14)(q24;q32)$ . L'oncogen *MYC* localitzat en el cromosoma 8q24 queda sota control de l'activitat del promotor del gen de les cadenes pesades de les immunoglobulines localitzat en el cromosoma 14q32 (figura 7) (taula 1) (Frohling, Dohner 2008).

**Figura 7. Conseqüències funcionals de les reordenacions cromosòmiques:** **A.** activitat constitutiva d'una proteïna quimèrica amb activitat tirosina cinasa, representada per la translocació  $t(9;22)(q34.1;q11.2)$ . **B.** expressió d'una proteïna quimèrica que provoca activitat transcripcional aberrant, representada per la  $t(11;22)$  del sarcoma d'Ewing. **C.** expressió d'una proteïna quimèrica que intervé en la repressió de la transcripció, representada per la translocació  $t(15;17)(q22;q12)$  en la leucèmia promielocítica aguda. **D.** sobreexpressió d'un oncogen per la juxtaposició d'aquest al promotor dels gens de les immunoglobulines o dels gens dels receptors T, representat per la translocació  $t(8;14)(q24;q32)$  del limfoma de Burkitt, per juxtaposició del promotor del gen *IGH* (14q32) amb la seqüència codificant del gen *MYC* (8q24).



Imatges tretes de Froiling et al (2008) (Frohling, Dohner 2008)



**Taula1. Exemples de reordenacions cromosòmiques i els gens implicats en les neoplàsies hematològiques.**

Canvi Genètic†	Gen de Fusió	Malaltia
<b>Formació de gens quimèrics</b>		
<u>Tirosina Cinases</u>		
del(4)(q12q12)	<i>FIP1L1-PDGFR</i>	Neoplàsia Mieloide Crònica amb Eosinofília
t(5;12)(q31-q32;p13)	<i>PDGFRB-ETV6</i>	Neoplàsia Mieloide Crònica amb Eosinofília
t(9;22)(q34;q11.2)	<i>BCR-ABL1</i>	LMC LLA
<u>Factors de Transcripció</u>		
t(1;22)(p13;q13)	<i>RBM15-MKL1</i>	LMA Megacarioblàstica
t(7;11)(p15-p14;p15.5)	<i>NUP98-HOXA9</i>	SMD LMA
t(8;21)(q22;q22)	<i>RUNX1-RUNX1T1</i>	LMA
t(9;11)(p22;q23)	<i>MLL-MLLT3</i>	LMA
t(12;21)(p13;q22.3)	<i>ETV6-RUNX1</i>	LMA
t(15;17)(q22;q12)	<i>PML-RARA</i>	LMA Promielocítica
inv(16)(p13.11q22.1)	<i>CBFB-MYH11</i>	LMA
<b>Gens estructuralment normals amb expressió aberrant</b>		
t(12;13)(p13;q12.3)	<i>ETV6-CDX2</i>	LMA

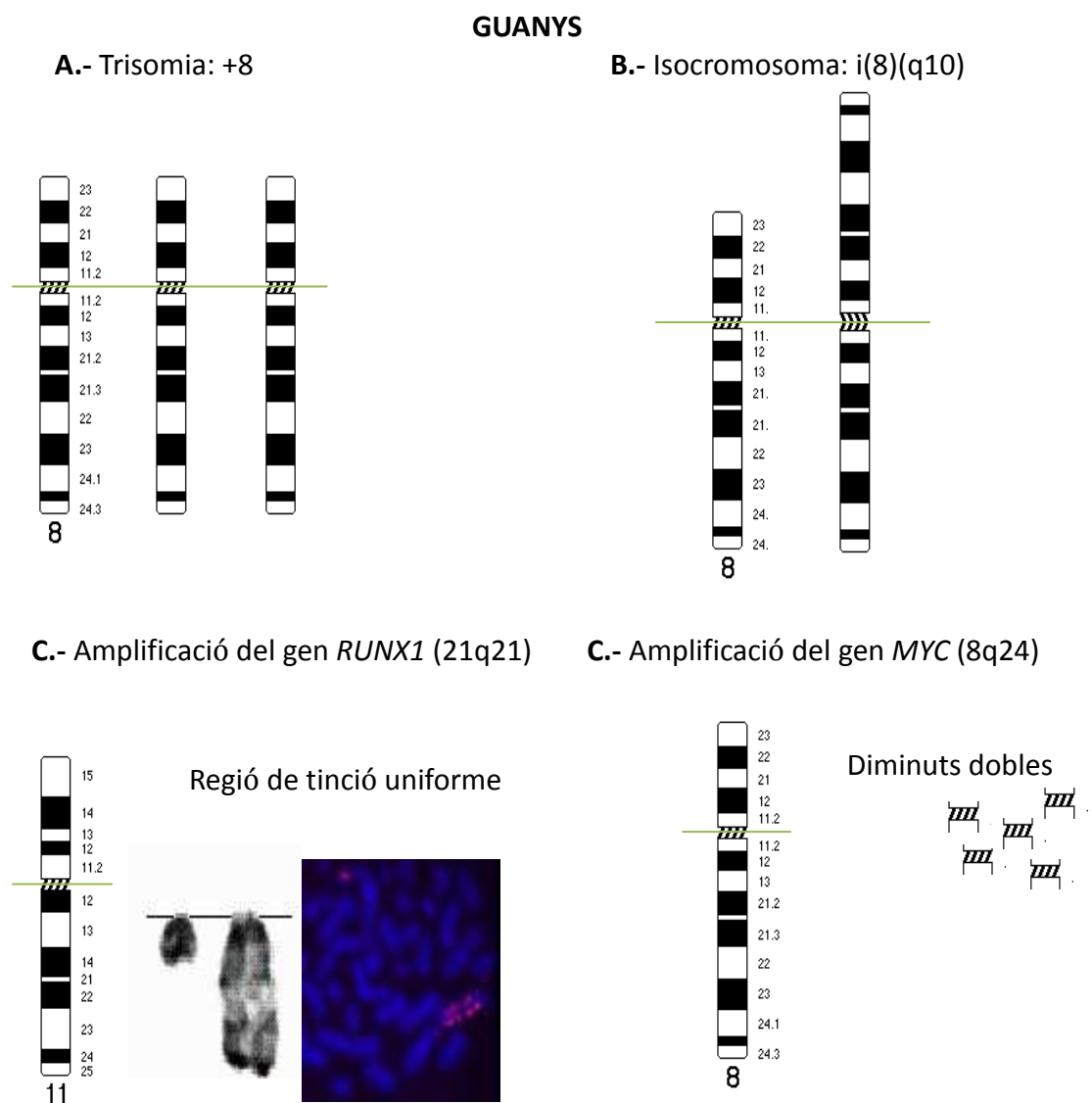
† “National Center for Biotechnology Information” (NCBI) (versió 36.3; [www.ncbi.nlm.nih.gov / MapView](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/MapView))

### 1.2.2.2. Alteracions Cromosòmiques Desequilibrades

Les anomalies cromosòmiques desequilibrades poden classificar-se en dos grans grups, guanys o pèrdues de material genòmic. Els guanys inclouen la trisomia completa o parcial d'un o més cromosomes i l'amplificació intracromosòmica o extracromosòmica, que poden ser identificades a nivell citogenètic com a regions

tenyides homogènies (HSR) o cromosomes diminuts (dmin)<sup>k</sup>, respectivament. Les pèrdues inclouen monosomies completes i delecions grans o submicroscòpiques (figura 8, 9).

**Figura 8. Esquema de guanys cromosòmics:** A.- trisomia, presència de tres cromosomes, B.- trisomia parcial del cromosoma 8 representat per un isocromosoma 8q10, C.- amplifcació del gen *RUNX1* representat per una regió tenyida de forma homogènia, D.- amplifcació del gen *MYC* representat per cromosomes doble diminuts.



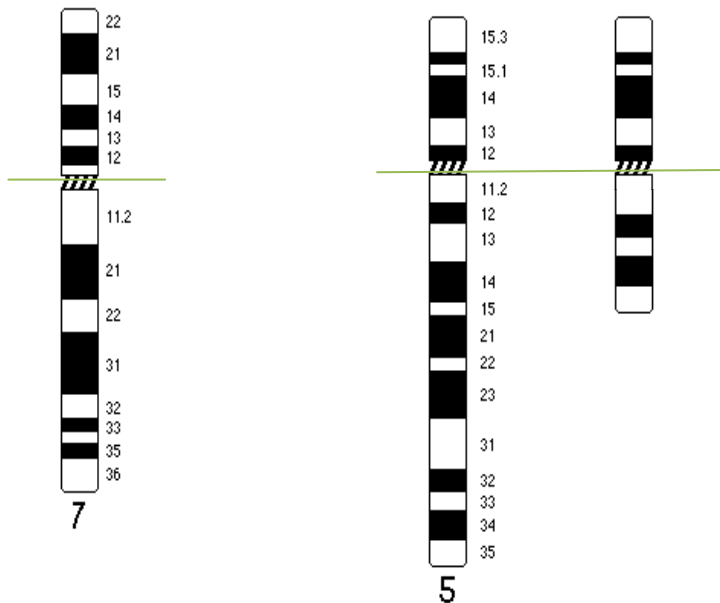
<sup>k</sup> HSR i dmin: són regions cromosòmiques formades a partir de l'amplifcació d'un gen, com el *MYC* en els limfomes o els gens *MLL* i *RUNX1* en les leucèmies.

Treta de <http://atlasgeneticsoncology.org/index.html>

**Figura 9. Esquema de pèrdues cromosòmiques:** **A.-** monosomia, presència d'un sol cromosoma homòleg, **B.-** delecio d'una regió d'un cromosoma.

**A.-** Monosomia -7

**B.-** Delecio: del(5)(q11.2q31)



Els guanys i les pèrdues genòmiques sorgeixen com a conseqüència de la no disjunció cromosòmica<sup>1</sup> o de translocacions no balancejades. Nombrosos exemples de guanys i pèrdues a gran escala estan associats a diferents tipus de leucèmies i SMD (taula 2). Cada anomalia implica múltiples gens i el coneixement de les seves funcions segueix sent una incògnita. Un camí per identificar-los és tipificar els que estan alterats a nivell d'ARN i de proteïna, assumint que una expressió incrementada d'aquestes correspon a l'amplificació dels gens.

<sup>1</sup> Disjunció cromosòmica: separació dels cromosomes homòlegs durant la meiosi.

**Taula 2. Exemples d'alteracions cromosòmiques no equilibrades.**

<b>Canvi Genètic†</b>	<b>Gen</b>	<b>Malaltia</b>
<b>Guanyes en el Genoma</b>		
<u>Anomalies on es coneix el gen implicat</u>		
dup(6)(q22-q23)	MYB	LLA
amp(11)(q23)	MLL	LMA
amp(13)(q12.3)	CDX2	LMA
amp(21)(q22.3)	RUNX1	LMA
<u>Anomalies on es suposa que hi ha gens implicats però no es coneixen</u>		
+8	?	SMD LMA
+12	?	LLC
<b>Pèrdues en el Genoma</b>		
<u>Anomalies on es coneix el gen implicat</u>		
del(5)(q32)	<i>RPS14</i>	SMD
del(7)(p13-p11.1)	<i>IKZF1</i>	LLA Ph'
del(9)(p13)	<i>PAX5</i>	LLA
del(11)(q22-q23)	<i>ATM</i>	LLC
del(12)(p13)	<i>ETV6</i>	LMA LLA
del(17)(p13.1)	<i>TP53</i>	Hemopaties Malignes
<u>Anomalies on es suposa que hi ha gens implicats però no es coneixen</u>		
del(5q)	?	SMD LMA
del(6q)	?	LLC
del(7q)	?	SMD LMA
del(20q)		SMD LMA

† “National Center for Biotechnology Information” (NCBI) (versió 36.3; [www.ncbi.nlm.nih.gov / MapView](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/MapView))

La majoria de pèrdues genòmiques contribueixen a la transformació maligna mitjançant la presència de gens supressors de tumors<sup>m</sup> de les regions cromosòmiques afectades, la inactivació d'un sol al·lel<sup>n</sup> o la inactivació de gens que no codifiquen proteïnes, si no que contenen gens que codifiquen per a microARN<sup>o</sup>. Aquests gens codifiquen ARN petits involucrats en la regulació post transcripcional de l'expressió dels gens (síntesi de proteïnes), i hi ha una evidència creixent que la pèrdua de microARN específics amb activitat supressora de tumors pot contribuir a la leucemogènesi (Albano, Anelli et al. 2010, Smonskey, Block et al. 2012) .

### 1.2.3. Leucèmies i Síndromes Mielodisplàstiques

#### 1.2.3.1. Leucèmia Mieloide Crònica, *BCR-ABL1* positiva

La LMC es troba dins del grup de les neoplàsies mieloproliferatives i es caracteritza per la fusió dels gens *BCR-ABL1* en el genoma de la cèl·lula mare de la medul·la òssia. La troballa principal en el moment de l'aparició de la LMC és una leucocitosis neutrofílica i la presència del cromosoma Filadelfia o t(9;22)(q34;q11.2). L'evolució natural de la malaltia sense un tractament és en dues o tres fases: fase crònica (FC), seguit d'una fase accelerada (FA) i/o una crisi blàstica (CB) (Swerdlow, Organització Mundial de la Salut et al. 2008).

**Incidència:** La taxa crua d'incidència de LMC és de 1-2 casos per cada 100.000 habitants i any, representa el 11-15% de les leucèmies dels adults, amb una incidència més alta en els homes que en les dones (1,23 vs 0,98) (Sant, Allemani et al. 2010) . La malaltia pot presentar-se en qualsevol edat, essent l'edat mitja de presentació entre els 50 i els 60 anys (figura 10). S'ha observat que poden existir diferències entre poblacions; el grup d'estudi HAEMACARE descriu que la incidència

---

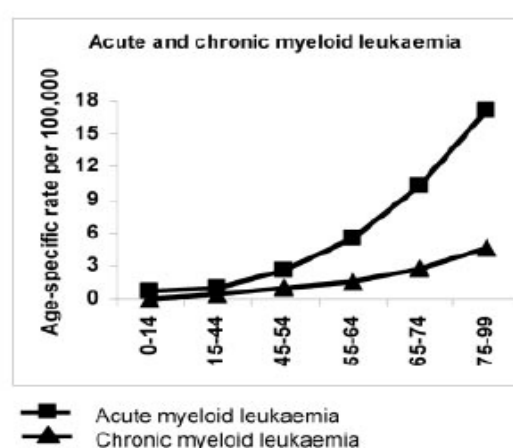
<sup>m</sup> Gen supresor de tumors: gens que es troben en l'ADN de la cèl·lula en estat no tumoral, normalment inhibeixen la proliferació excessiva de la cèl·lula. Una mutació o una deleció del gen supresor incrementa el risc de que es produeixi un tumor, en perdre la seva funció.

<sup>n</sup> Al·lel: cadascuna de les variants en la seqüència d'un gen i que es manifestarà en modificacions en la funció d'aquest gen.

<sup>o</sup> microARN: ARN monocatenari petit (21-25 nucleòtids).

de la LMC és més alta en el sud d'Europa que en el nord (1,16 vs 0,9). Semblaria doncs que la població llatina podria tenir una major tendència a desenvolupar LMC (Sant, Allemani et al. 2010) . Les dades presentades per l'Institut Nacional del Càncer de nord Amèrica sota el programa SEER mostren una taxa d'incidència en la població gran caucàsica de 1,42 vegades superior a la de la població hispànica ( $p < 0,001$ ) i 1,22 vegades superior a la de la població d'origen africà ( $p = 0,003$ ) (Matasar, Ritchie et al. 2006, Yamamoto, Goodman 2008). La població asiàtica presenta una taxa d'incidència inferior a la dels països occidentals i a més a més afecta a una població més jove (Au, Caguioa et al. 2009)

**Figura 10. Taxes d'incidència específiques per grups d'edat (per 100.000 habitants i any) de malalts diagnosticats de LMC i LMA a Europa entre els anys 2000 i 2002**



Imatge treta de Sant et al. (2010)

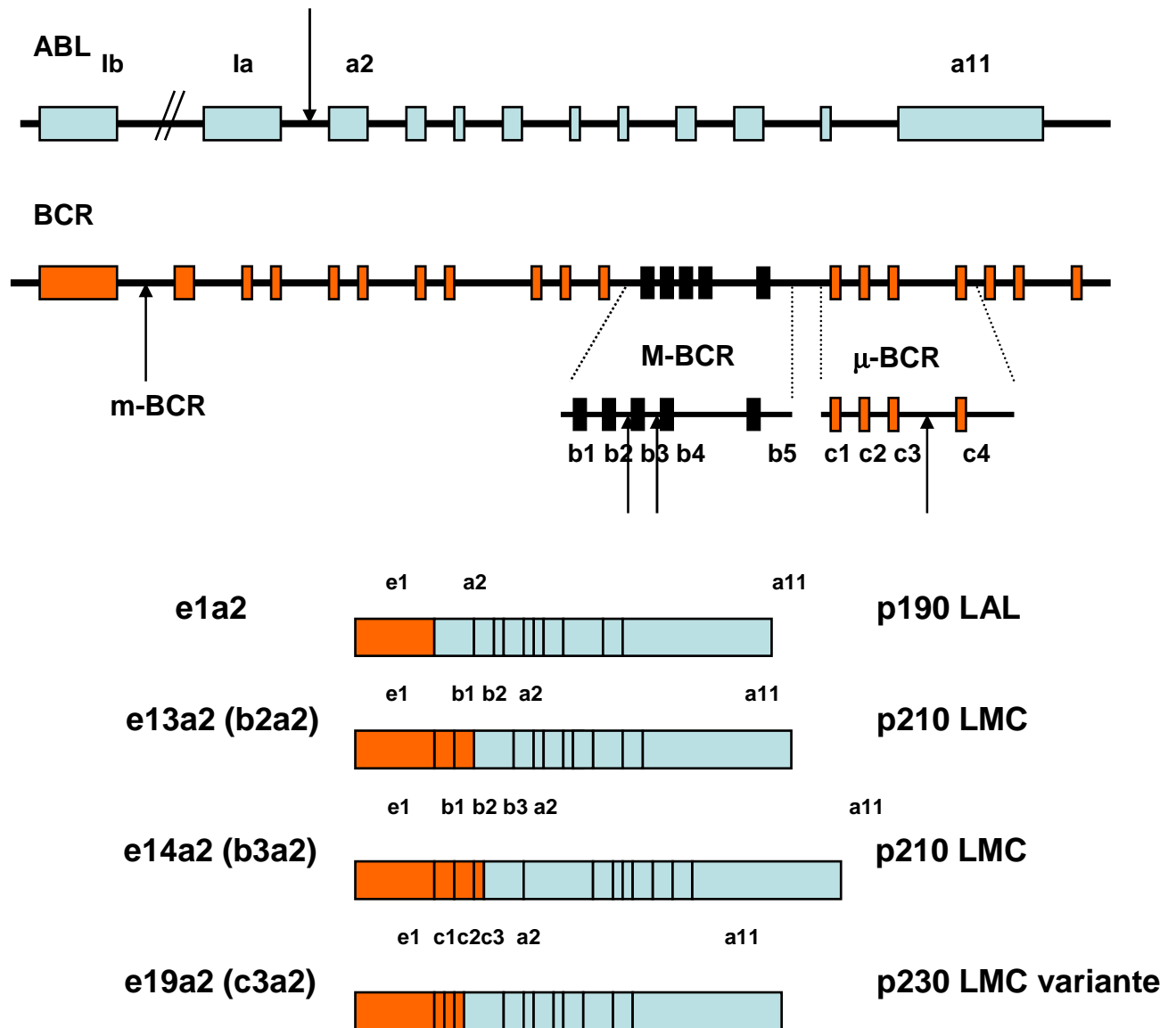
**Etiologia:** Els factors de risc externs descrits per a desenvolupar una LMC han estat entre d'altres l'exposició a dosis altes de radiació ionitzant com són els efectes de les bombes atòmiques durant la segona guerra mundial o l'accident de la central nuclear de Txernòbil i de Fukushima o secundàries a tractament de primeres neoplàsies amb radioteràpia (Corso, Lazzarino et al. 1995, Aguiar 1998, Kamada 2001, Bauduer, Ducout et al. 2002, Matsuda, Kumagai et al. 2013) . L'exposició a nivells alts de productes relacionats amb el butadiè (gomes sintètiques) també comportaria més risc a desenvolupar LMC (Clapp, Jacobs et al. 2008) . En un estudi

---

cas-control on analitzen la associació entre l'exposició laboral, *hobbies* i estils de vida i la presentació a la LMC, es va observar que hi ha una certa associació de la malaltia amb els dissolvents orgànics (benzè) i l'exposició a camps magnètics de baixa freqüència (Bjork, Albin et al. 2001, Descatha, Jenabian et al. 2005).

**Alteració citogenètica i valor pronòstic:** El diagnòstic citogenètic de la LMC es basa en la presència de la translocació t(9;22)(q34;q11.2); com a conseqüència d'aquesta translocació es deriva l'anomenat cromosoma Filadèlfia [der(22)t(9;22)] (Ph'). En un 5% dels casos aquesta nova disposició genètica només és detectable per tècniques de FISH o tècniques moleculars (reacció en cadena de la polimerasa – PCR). La translocació uneix el segment 3' del gen *ABL1* localitzat en el cromosoma 9q34.1 a la regió 5' del gen *BCR* localitzat en el cromosoma 22q11.2. D'aquesta manera es crea un gen híbrid *BCR-ABL1* que alhora es transcriu en un ARN missatger quimèric. El punt de trencament del gen *BCR* és gairebé sempre en el clúster de trencaments més gran M-BCR (*major breakpoint cluster region*) (entre els exons 12- 16); en aquest cas la proteïna alterada que es sintetitza té un pes molecular de 210 kd, anomenada p210<sup>BCR-ABL1</sup>. En comptades ocasions el punt de trencament del gen *BCR* també pot succeir en la regió  $\mu$ -BCR (entre els exons 17-20) i que codifica per una proteïna de fusió més gran anomenada p230<sup>BCR-ABL1</sup>. Els pacients amb aquesta proteïna presenten una maduració neutrofílica i una trombocitosi destacades. Finalment, els trencaments en una tercera regió anomenada menor o més petita m-BCR (entre els exons 1-2), esdevenen en la formació d'una proteïna de fusió de p190<sup>BCR-ABL1</sup> (figura 11). La proteïna p190<sup>BCR-ABL1</sup> s'observa en una proporció petita de pacients conjuntament amb la proteïna p210<sup>BCR-ABL1</sup>. En alguns casos, molt rars, es pot observar solament la proteïna p190<sup>BCR-ABL1</sup>, llavors la LMC es caracteritza per un increment en el nombre de monòcits (figura 11).

Figura 11. Representació dels gens *BCR* i *ABL1* amb els seus punts de trencament i la formació de les tres proteïnes de fusió (Woessner, Florensa et al. 2000).



Imatge treta de Woessner et al (2000)

Com a conseqüència de la fusió *BCR-ABL1* que és la responsable de l'activació constitutiva de diverses vies de senyal de transducció s'adquireix una activitat



tirosina cinasa alterada. Aquest fet es tradueix en la desregulació de la proliferació cel·lular, la reducció d'adherència a l'estroma de la medul·la òssia, i una resposta defectuosa de l'apoptosi.

La t(9;22)(q34;q11.2) provoca inestabilitat genètica i el resultat de la fusió *BCR-ABL1* causa l'adquisició d'anomalies cromosòmiques addicionals i mutacions, amb la consegüent progressió a FA i CB de la LMC.

Les opcions de tractament pels pacients en FC de LMC al llarg del temps han estat hidroxiurea<sup>p</sup>, interferó  $\alpha^q$  i transplantament de cèl·lules mare, amb resultats no del tot satisfactoris. El coneixement en profunditat d'aquesta alteració genètica ha permès dissenyar fàrmacs amb activitat anti tirosina cinasa (imatinib mesylate), base de l'actual tractament de la LMC, que han millorat de manera notòria la seva supervivència. Imatinib mesylate competeix amb l'ATP per unir-se al domini cinasa de la nova molècula BCR-ABL1, així impedeix la fosforilació del residu de tirosina en el seu substrat. La interrupció de la senyal oncogènica en aquesta via és molt efectiva pel control de la malaltia, sobretot en la FC. No obstant l'emergència de subclones de cèl·lules progenitores leucèmiques amb mutacions puntuals no permet la unió de l'inhibidor en el domini cinasa, i això pot produir resistència al fàrmac, sobretot en FA i CB. Per això, es segueixen desenvolupant fàrmacs de segona generació per poder inhibir els dominis associats a diferents mutacions, com són nilotinib i dasatinib (Baccarani, Deininger et al. 2013) .

Translocacions variants: Durant la FC, un 5-10% dels casos presenten translocacions variants a la t(9;22)(q34;q11.2), on a més a més dels cromosomes 9 i 22 estan implicats un tercer o quart cromosoma [t(v;22)] (Albano, Anelli et al. 2010, Fabarius, Leitner et al. 2011, Marzocchi, Castagnetti et al. 2011, Bennour, Ouahchi et al. 2012) . No s'ha observat que sigui un factor de risc amb valor pronòstic (Baccarani, Deininger et al. 2013) .

Micro-deleccions del cromosoma 9 derivatiu [der(9)t(9;22)]: L'aplicació de la tècnica de FISH ha permès identificar deleccions de 100 o més kilobases en la regió adjacent

---

<sup>p</sup> Hidroxiurea: fàrmac sintètic utilitzat com a antineoplàsic, que actua en la fase de síntesi de la cèl·lula.

<sup>q</sup> Interferó alfa: citocina que activa el sistema immunitari per reconèixer les cèl·lules tumorals.

---

al punt de fusió dels gens *ABL1-BCR* en el cromosoma 9 derivatiu de la  $t(9;22)(q34;q11.2)$  (10-25%). La variabilitat en la freqüència de presentació de microdelecions ve donada per la sonda de FISH utilitzada (Bennour, Ouahchi et al. 2012) . Normalment implica una pèrdua de seqüències tant de la regió 9q34.1 com de la regió del cromosoma 22q11.2 translocat. Les delecions es produeixen en la regió 3' del punt de trencament *BCR* i/o 5' del punt de trencament *ABL1*. Es suposa que les microdelecions del  $der(9)t(9;22)$  succeeixen en el moment que es produeix la translocació, ja que totes les metafases analitzades porten la delecio i no s'observen mosaics (Herens, Tassin et al. 2000, Sinclair, Nacheva et al. 2000, Huntly, Reid et al. 2001, De Melo, Milojkovic et al. 2008) . La presència de la delecio pot ser un marcador pronòstic independent, en aquells pacients tractats amb hidroxiurea, interferó- $\alpha$  o transplantament de progenitors hematopoètics. Els pacients sense la delecio presenten una mitjana de supervivència significativament superior als pacients que la presenten (88 mesos vs 38 mesos) (Huntly, Reid et al. 2001). Amb els tractaments actuals d'inhibidors de tirosina cinasa no s'ha demostrat que mostren un pitjor pronòstic (Sinclair, Nacheva et al. 2000, Huntly, Reid et al. 2001, Huntly, Bench et al. 2002, Kim, Popradi et al. 2008, Quintas-Cardama, Kantarjian et al. 2011, Bennour, Ouahchi et al. 2012, Baccarani, Deininger et al. 2013) .

Alteracions secundàries a la  $t(9;22)(q34;q11.2)$ : Aproximadament un 3–7% de pacients presenten la  $t(9;22)(q34;q11.2)$  acompanyada d'altres anomalies citogenètiques en FC, en un 30% dels casos en FA i en el 80% de CB (Luatti, Castagnetti et al. 2012, Fabarius, Leitner et al. 2011) . La freqüència més baixa ha estat en un estudi xinès (3%) (Mu, Ma et al. 2012) . Les anomalies que acompanyen al cromosoma Ph' que s'han vist amb més freqüència en FA o CB es consideren dins del grup anomenat de ruta major i són: la pèrdua del cromosoma Y, dos cromosomes Ph', trisomies dels cromosomes 8 i 19, i la presència d'un isocromosoma de braços llargs del 17 [ $i(17)(q10)$ ]. La resta d'anomalies es consideren englobades en una ruta menor com són la monosomia del cromosoma 7, pèrdua del braç llarg del cromosoma 20 [ $del(20)(q11)$ ], trisomia del cromosoma 21 o la translocació  $t(3;21)(q26;q22)$ . Sembla ser que la presència d'anomalies secundàries podria anar més associada al sexe masculí a causa bàsicament de la

freqüència en que es veu la pèrdua del cromosoma Y i que presenten un percentatge més elevat de blastos. En la transformació a CB s'adquireixen en un 80% de les vegades anomalies secundàries a la t(9;22)(q34;q11.2), però la base molecular de la transformació no es coneix molt bé. Han estat identificats en un subgrup petit de pacients amb de CB canvis moleculars: mutacions o delecions de *TP53*, *P16<sup>INKA</sup>*, de la proteïna del retinoblastoma, i mutacions o sobreexpressió de *RAS* i *EVI1*. No obstant no es coneix quines anomalies cromosòmiques secundàries fan progressar ràpidament a CB (Huntly, Reid et al. 2001) . La presència d'anomalies secundàries és un signe de progressió de la malaltia, i les anomalies considerades dins de la ruta major s'associen a una supervivència més curta i a una ràpida progressió a la FA o CB (Fabarius, Leitner et al. 2011, Luatti, Castagnetti et al. 2012, Bacarani, Deininger et al. 2013) .

#### **1.2.3.2. Leucèmia Mieloide Aguda**

La LMA segons l'OMS 2008 (Swerdlow, International Agency for Research on Cancer 2008) la podem dividir entre diferents grups: a.- aquelles que es caracteritzen per presentar alteracions genètiques definides per trets morfològics, immunològics específics i amb significat pronòstic, b.- LMA amb canvis mielodisplàstics, c.- neoplàsies mieloides relacionades amb tractaments previs i d.- un últim grup que englobaria totes aquelles leucèmies mieloides que no estiguin incloses en les categories anteriors.

**Incidència:** Representa un 29% de les leucèmies i la taxa crua d'incidència a Europa és de 3,7 casos per cada 100.000 habitants i any, amb una incidència superior en els homes (4 vs 3,4), que presenta un augment significatiu amb l'edat (figura 10) (Sant, Allemani et al. 2010, Visser, Trama et al. 2012) . S'han observat diferències poblacionals en el projecte SEER i el registre NAACCR; essent superiors en la població caucàsica, seguit de l'asiàtica i la població d'origen africà (Yamamoto, Goodman 2008) .

**Etiologia:** S'han descrit els següents factors medi ambientals: exposició al benzè en els treballadors relacionats amb la indústria del calçat i del cuir, de petroquímiques,

---

exposició crònica a radiacions ionitzants, al tabac, a dissolvents orgànics apart del benzè o tractaments previs amb quimioteràpia (Ciccone, Mirabelli et al. 1993, Albin, Bjork et al. 2000, Bjork, Albin et al. 2001, Terry, Shore et al. 2005, Descatha, Jenabian et al. 2005, Keegan, Bunch et al. 2012, Strom, Oum et al. 2012, Metz-Flamant, Samson et al. 2012, Saberi Hosnijeh, Christopher et al. 2013) . Per contra, sembla ser que el consum de verdures, peix i fruits secs podrien prevenir de la leucèmia (Yamamura, Oum et al. 2013) .

#### **Alteracions citogenètiques i valor pronòstic:**

Les alteracions més freqüentment observades en la LMA poden variar en funció de la localització geogràfica: s'ha descrit que la  $t(15;17)(q22;q12)/PML-RARA$  de la leucèmia aguda promielocítica que es troba amb major freqüència en la població llatina, mentre que la  $t(8;21)(q22;q22)/RUNX1-RUNX1T1$  s'observa amb més freqüència en la població japonesa (Sierra, Alonso et al. 2006) . També s'observen diferències en la distribució de les anomalies cromosòmiques recurrents segons la franja d'edat: la incidència de cariotips alterats és menor en l'adult que en els pacients pediàtrics diagnosticats de LMA *de novo* (55% vs 76%), les translocacions que impliquen el gen MLL localitzat a 11q23, són 4 vegades més freqüents en els nens que en els adults, la  $t(1;22)(p13;q13)/OTT-MAL$  s'associa a la leucèmia megacarioblàstica i és gairebé exclusiva de nens amb edats inferiors als 2 anys. Per contra, la translocació  $(15;17)(q22;q12)$  i la  $t(8;21)(q22;q22)$ , les dues anomalies més freqüents en els adults joves (<65 anys) i nens grans, no s'observen en nens menors d'un any. En canvi la  $t(3;3)(q21;q26)$  o la  $inv(3)(q21q26)/RPN1-EVI1$ , que es detecten en el 2% dels adults, mai es presenten en pacients diagnosticats de LMA *de novo* d'edats inferiors a 12 anys (Hernandez, Granada et al. 2011) .

L'any 1983 un comitè d'experts va presentar el primer gran estudi prospectiu i multicèntric que va definir el cariotip com a factor pronòstic independent en la LMA (Chromosomal abnormalities and their clinical significance in acute lymphoblastic leukemia. Third International Workshop on Chromosomes in Leukemia. 1983) . Des de llavors molts estudis han confirmat aquest fet. Sobre la base dels resultats del cariotip al diagnòstic, s'han definit tres grups citogenètics de risc: favorable,

intermedi i advers (Byrd, Mrozek et al. 2002, Grimwade, Hills et al. 2010, Medeiros, Othus et al. 2010) . Una de les anomalies de risc favorable és la  $t(15;17)(q22;q12)$ , en que el tractament amb àcid holo transretinoic en combinació amb quimioteràpia s'obté una elevada taxa de curacions. La resta de les LMA es tracten amb quimioteràpia intensiva i/o transplantament de progenitors hematopoètics. La  $inv(16)(p13q22)$  i la  $t(8;21)(q22;q22)$  que pertanyen al grup de risc favorable, presenten supervivències globals als 5 anys superiors al 50%. Per contra, la  $inv(3)/t(3;3)$ , la monosomia o deleció de 5q, 7q i 17p, translocacions de 11q23 (excepte la  $t(9;11)(p21-22;q23)$  i la  $t(11;19)(q23;p13)$ ), la  $t(9;22)(q34;q11.2)$  i els cariotips complexos de més de >3 alteracions s'associen a mal pronòstic, amb una supervivència global als 5 anys properes al 10%. La resta d'anomalies i el cariotip normal es consideren de risc intermedi (Grimwade, Hills et al. 2010, Mrozek, Marcucci et al. 2012) .

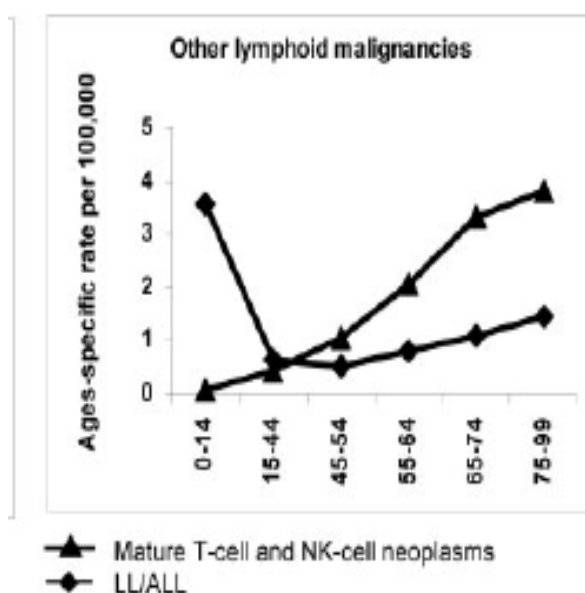
### 1.2.3.3. Leucèmia Limfoblàstica Aguda

La LLA és una neoplàsia de cèl·lules limfoides immadures i com succeeix en les LMA, segons l'OMS 2008 es classifiquen en una sèrie d'entitats amb anomalies genètiques recurrents i amb perfils clínics i fenotípics ben definits:  $t(9;22)(q34;q11.2)$ ,  $t(v;11q23)$ ,  $t(12;21)(p13;q22)$ ,  $t(5;14)(q31;q32)$ ,  $t(1;19)(q23;p13.3)$ , hiperdiploïdia i hipodiploïdia; més dos grups que no presenten alteracions genètiques recurrents amb perfils concrets: leucèmia limfoblàstica/limfoma B i leucèmia limfoblàstica/limfoma T (Swerdlow, Organización Mundial de la Salud et al. 2008) .

**Incidència:** La taxa crua d'incidència a Europa és de 1,28 – 1,6 casos per cada 100.000 habitants a l'any, que representa un 14% de les leucèmies (RW.ERROR - Unable to parse: ) (Sant, Allemani et al. 2010) amb una incidència superior en els homes (1,44 vs 1,12), i que varia segons el grup d'edat: en nens de menys de 14 anys la incidència observada és de 4, després disminueix fins a valors inferiors a 1 en els 44 anys i posteriorment s'incrementa fins arribar a poc més de 1 en la gent

d'edat avançada (figura 13) (Marcos-Gragera, Vilardell et al. 2006, Sant, Allemani et al. 2010) . Dades semblants s'observen en la població nord americana. Com en les LMA la incidència també varia depenent de la població, essent més freqüent en la població caucàsica i asiàtica que en la població d'origen africà (tant en adults com en nens). Respecte la població hispànica, la incidència és superior que en la població no hispànica (2,88 vs 2,21 en els homes i 2,05 vs 1,47 en les dones) (Matasar, Ritchie et al. 2006, Yamamoto, Goodman 2008) . (RW.ERROR - Unable to parse: )

**Figura 13. Taxes d'incidència específiques per grup d'edat (per 100.000 habitants - any) de malalts diagnosticats de LLA entre els anys 2000 i 2002 a Europa.**



Imatge treta de Sant et al. (2010) (Sant, Allemani et al. 2010)

**Etiologia:** els factors de risc que s'han descrit associats a la LLA són la infecció pel virus HTVL-I en les LLA de tipus T, o el xarampió en edats primerenques ( $\leq 5$  anys), l'exposició a radiacions ionitzants i al benzè. Treballadors de laboratoris químics, l'estil de vida com és el consum de tabac en progenitors durant l'embaràs i posteriorment durant la vida del nadó van lligats a l'aparició de LLA (Pobel, Viel 1997, Gorini, Stagnaro et al. 2007, Rudant, Menegaux et al. 2008, Brosselin, Rudant et al. 2009, Rudant, Clavel et al. 2010, Metz-Flamant, Samson et al. 2012, Keegan,

Bunch et al. 2012, Parodi, Crosignani et al. 2013) . També s'han descrit LLA secundàries a tractament a primeres neoplàsies (Shivakumar, Tan et al. 2008) i s'ha descrit la possibilitat d'heredar polimorfismes genètiques que siguin susceptibles a desenvolupar una LLA en els nens (Sherborne, Hemminki et al. 2011) .

**Alteracions citogenètiques i valor pronòstic:** S'observen cariotips alterats entre un 64% i un 85% de pacients adults diagnosticats de LLA, i en un 90% de LLA pediàtriques. Tot i tenir un percentatge elevat de pacients amb cariotip alterat, aquests venen representats per una ampla diversitat d'anomalies, la majoria de les quals associades a característiques clíniques pròpies. La variabilitat principal és la distribució del tipus d'anomalia cromosòmica en les diferents franges d'edat i el seu pronòstic (figura 14, 15) (Moorman, Harrison et al. 2007, Pullarkat, Slovak et al. 2008, Moorman, Chilton et al. 2010, Matteucci, Barba et al. 2010, Ribera, Garcia et al. 2012) :

La translocació  $t(12;21)(p13;q22)$  representa el 25% dels pacients pediàtrics però és infreqüent en els adults. Aquesta translocació és sensible a dosis altes d'asparraginas i s'associa a bon pronòstic. Es considera que és forma durant el desenvolupament del fetus.

La hiperdiploïdia de 51-65 cromosomes representa entre el 25-30% dels pacients pediàtrics mentre que en els pacients adults només s'observa en un 10%. S'associa a un pronòstic favorable i la majoria de trisomies o tetrasomies són dels cromosomes X, 4, 6, 10, 14, 17, 18 i 21.

La hipodiploïdia es divideix en dues categories; hipodiploïdia de 30-39 cromosomes que representa el 3-5% dels pacients adolescents i adults i poc freqüent en nens. S'associa a mal pronòstic i les monosomies que s'observen amb més freqüència són dels cromosomes 3, 7, 15, 16 i 17. En aquests casos es pot duplicar-se la clona, trobant-se en l'estudi citogenètic clones de 60-78 cromosomes. La quasi haploïdia seria el segon grup amb un nombre inferior a 30 cromosomes, s'observa en un 1% dels pacients pediàtrics, mai en lactants o adults. S'associa a molt mal pronòstic.

La translocació  $t(4;11)(q21;q23)$  i altres reordenacions del gen 11q23 (*MLL*) es poden detectar fins a un 70% de lactants diagnosticats de leucèmia aguda, en nens

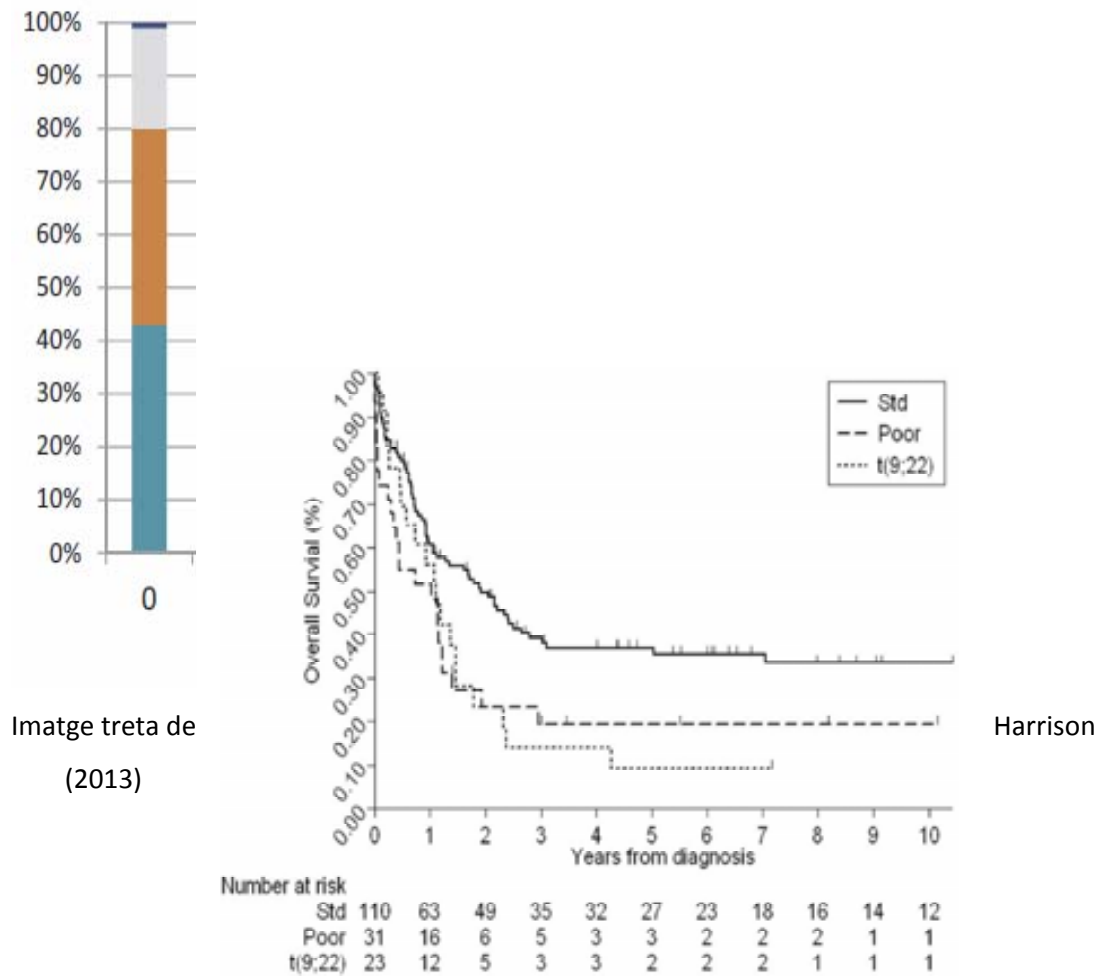
---

d'un any la seva incidència és molt baixa però es va incrementant lleugerament amb l'edat. També és una de les reordenacions que es creu que pot ser produïda durant el desenvolupament del fetus. S'associa a mal pronòstic en lactants i en general se la considera de risc advers. La translocació  $t(1;19)(q23;p13)$  s'observa en un 3-5% dels pacients independentment de l'edat. Actualment es considera de pronòstic estàndard. La translocació del  $14q32/IGH@$  s'observa en un 5% dels pacients adolescents i adults joves. S'associa a mal pronòstic. L'amplificació intracromosòmica del cromosoma 21 ( $iAMP21$ ) representa un 3-5% dels nens grans, infreqüent en nens menors de 5 anys i adults majors de 20 anys. S'associa a mal pronòstic. La translocació  $t(9;22)(q34;q11.2)$  representa el 2% dels pacients pediàtrics, el 20% en els pacients adults joves i fins un 40% dels pacients majors de 40 anys. S'associa a mal pronòstic, però actualment amb els inhibidors de tirosina cinasa la supervivència és superior.

Respecta les LLA de fenotip T sempre han estat difícils d'analitzar per citogenètica convencional, moltes vegades s'obtenen cariotips normals o no creixement. Les reordenacions més freqüents són aquelles que impliquen els gens dels receptors de les cèl.lules T:  $TCR\alpha/\delta$  (14q11),  $TCR\beta$  (7q34) i  $TCR\gamma$  (7p14). La LLA-T solament representa un 15% de les LLA pediàtriques i un 25% de les LLA de l'adult i les reordenacions genètiques no han estat ben definides a nivell pronòstic.

**Figura 14. Distribució de les anomalies cromosòmiques de la LLA segons la franja d'edat.**





**Figura 15. Representació gràfica de la supervivència global dels tres grups de risc citogenètics de pacients adults diagnosticats de LLA segons el protocol de tractament UKALLXII/ECOG2993: les anomalies cromosòmiques incloses en el grup d'alt risc són la t(4;11), translocacions 14q32, hipodiploïdies i cariotip complex de >4 anomalies; els cariotips inclosos en el grup de risc estàndard són la resta de pacients; els casos amb la t(9;22) es consideren grup a part.**

---

Imatge treta de Moorman et al (Moorman, Chilton et al. 2010)

#### **1.2.3.4. Leucèmia Limfàtica Crònica**

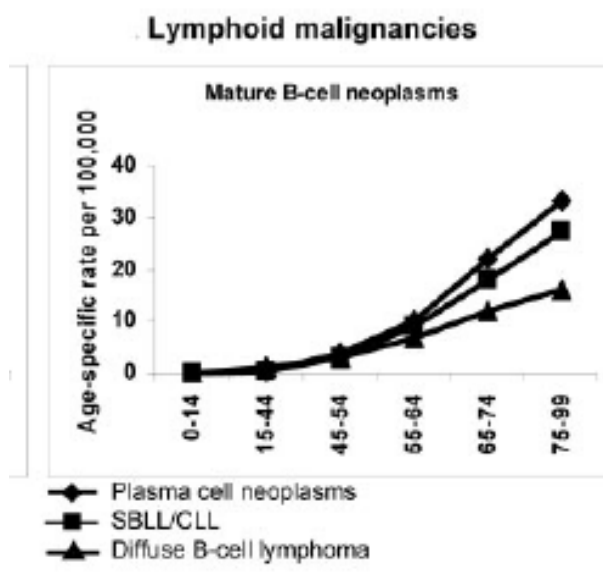
La LLC és una proliferació monoclonal de limfòcits B, CD5, CD23 positius, petits, monomòrfics, que la majoria estan en fase G<sub>0</sub> del cicle cel·lular. La seva vida mitjana és molt llarga i s'acumulen en l'organisme, preferentment en els ganglis limfàtics, medul·la òssia i sang perifèrica. Formen centres de proliferació en els teixits infiltrats, conjuntament amb prolimfòcits i paraimmunoblastos. Es produeix una acumulació de limfòcits CD5 positius els quals eviten l'apoptosi a causa de la sobreexpressió de gens antiapoptòtics de la família de les proteïnes Bcl-2.

En absència d'afectació extra medul·lar s'han de presentar xifres perifèriques de limfòcits superiors a  $5 \times 10^9 / L$  i és necessari que la limfocitosis que es detecti com a mínim durant tres mesos.

Els limfòcits de la LLC poden originar-se al mantell perifol·licular (limfòcits B verges) o podrien ser limfòcits de memòria que han experimentat hipermutacions somàtiques de les regions variables del gen de les cadenes pesades de les immunoglobulines, quan passen pel centre germinal (Woessner, Florensa et al. 2000, Swerdlow, Organización Mundial de la Salud et al. 2008) .

**Incidència:** La LLC és la leucèmia de l'adult més freqüent en els països occidentals, representant un 36% del total; per contra, és rara en els països orientals. A occident les taxes d'incidència són entre 2 i 6 casos per 100.000 habitants i any, les quals incrementen amb l'edat per arribar a la xifra de 12,8 casos cada 100 000 habitants i any als 65 anys (figura 16). És més freqüent en els homes que en les dones (5,87 vs 4,01) (Swerdlow, Organización Mundial de la Salud et al. 2008, Yamamoto, Goodman 2008, Sant, Allemani et al. 2010, Ruchlemer, Polliack 2013) .

Figura 16. Taxes d'incidència específiques per grup d'edat (per 100.000 habitants i any) dels malalts diagnosticats de LLC entre els anys 2000 i 2002 a Europa.



Imatge treta de Sant et al. (2010)

**Etiologia:** La propensió a generar cèl·lules B clonals ja ha estat adquirida en l'estadi de cèl·lula mare hematopoètica (Kikushige, Ishikawa et al. 2011) . No hi ha factors de risc evidents que demostrin la seva implicació en l'etiologia de la LLC. No obstant, està considerada una de les hemopaties relacionada amb una història familiar de càncer. En famílies estudiades s'han identificat 22 loci susceptibles de generar LLC (Slager, Caporaso et al. 2013). Un altre factor que sembla ser important en la gènesi de la LLC són les vies que modulen el sistema immunitari, i la possible relació de diferents tipus d'estimulació antigènica (infeccions, malalties autoimmunes i estats inflamatoris crònics i al·lèrgies), com és el cas del virus de l'hepatitis C (Landgren, Gridley et al. 2007) . A nivell laboral s'ha constatat que el fet de treballar en laboratoris químics, en la indústria del petroli, en l'agricultura o en granges incrementa el risc de patir una LLC (Descatha, Jenabian et al. 2005, Saberi Hosnijeh, Christopher et al. 2013) .

**Alteracions citogenètiques i valor pronòstic:** La LLC és la leucèmia més freqüent en l'adult i té un curs clínic molt variable; alguns pacients moren als pocs mesos del seu diagnòstic, mentre que altres poden viure més de 20 anys. Els sistemes d'estadiatge

---

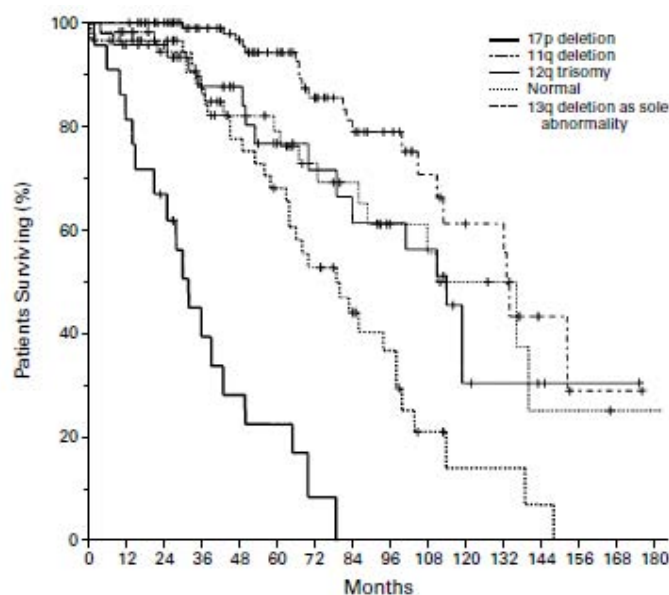
clínic més utilitzats (Zwiebel, Cheson 1998) no poden preveure el risc de progressió de la malaltia per cada individu, ni la seva supervivència quan l'estadiatge del pacient és baix. Per aquest motiu hi ha hagut un interès creixent en el coneixement de les anomalies cromosòmiques que podrien identificar grups de pacients amb unes característiques clíniques i pronòstiques concretes. El 1980 es comencen a realitzar estudis citogenètics mitjançant l'estimulació de les cèl·lules amb mitògens com és el TPA (*phorbol 12-myristate 13-acetate*). Es van trobar alteracions cromosòmiques per tècniques de citogenètica convencional en un 40-50% dels pacients, amb la tècnica de FISH es detecten fins a un 82% de casos amb anomalies, això es deu al seu baix índex mitòtic i a una morfologia dels cromosomes difícil d'analitzar. Mitjançant la tècnica de FISH les alteracions que s'observen amb més freqüència són la deleció del braç llarg del cromosoma 13q14.3 (D13S319), delecions de 11q22.3 (*ATM*), la trisomia del cromosoma 12 i delecions de 17p13.1 (*TP53*). La freqüència de cada una d'aquestes anomalies dependrà de la situació clínica del pacient en el moment en que es fa l'estudi citogenètic. Així doncs, la deleció 13q14.3 es pot trobar entre un 48-59% dels casos, la deleció 11q22.3 entre un 10-32%, la trisomia del cromosoma 12 entre un 11 i un 18%, i la deleció 17p13.1 entre un 3-27% (Zenz, Mertens et al. 2008) . Aquestes anomalies poden presentar-se com alteració única o combinades entre elles, sent la deleció 13q14.3 la que es presenta amb més freqüència com anomalia única (66% de les vegades), seguit de la trisomia 12 (42%), la deleció 11q22.3 (33%) i per últim la deleció 17p13.1 (17%). Totes les delecions tenen una presentació mono al·lèlica a excepció de la regió 13q14.3 que en el 24% de les vegades és bi al·lèlica o concomitant (mono al·lèlica i bi al·lèlica). Aquestes anomalies estan incloses entre els diferents paràmetres predictius de supervivència conjuntament amb l'estat mutacional de les *IgH*, l'expressió de ZAP70 i de CD38, el temps de duplicació de la xifra de limfòcits inferior a 12 mesos, i els valors de la beta 2 microglobulina, timidina kinasa, i CD23 en sèrum. Sembla ser que les delecions de *TP53* o d'*ATM* són les úniques anomalies citogenètiques que poden tenir un significat pronòstic respecte la supervivència global o la supervivència lliure de progressió (Woyach, Ruppert et al. 2011, Oliveira, de la Banda et al. 2011) . Els pacients amb deleció 13q14 es caracteritzen per ser

---

d'edat avançada i s'associa a bon pronòstic, el casos que presenten trisomia 12 com a única anomalia es caracteritzen per ser LLC atípiques morfològicament, els casos amb pèrdua d'*ATM* normalment es s'associa a homes joves i amb adenopaties però que responen al tractament. Finalment les pèrdues de *TP53* es caracteritza per presentar-se en estadis avançats i amb un mal pronòstic (figura 17).

Tot i que la incidència de la LLC és inferior en els països asiàtics sembla ser que té la mateixa freqüència d'anomalies citogenètiques, amb algunes variacions depenent de les sèries publicades (Tsukasaki, Lohr et al. 2006, Qiu, Xu et al. 2008, Lai, Huang 2011).

**Figura 17. Probabilitat de supervivència des del moment del diagnòstic en les cinc categories cromosòmiques:** la mitjana de supervivència per el grup de del(17p), del(11q), +12, cariotip normal i del(13q) com anomalies úniques són de 32, 79, 114, 111 i 133 mesos respectivament (Dohner, Stilgenbauer et al. 2000).



No. AT Risk																				
17p deletion	23	18	13	8	5	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11q deletion	66	53	47	43	33	27	20	15	10	4	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0
12q trisomy	47	44	41	29	24	17	14	13	12	11	4	3	2	1	1	0	0	0	0	0
Normal	57	51	45	37	30	27	20	17	12	11	6	5	2	2	1	1	1	1	1	0
13q deletion as sole abnormality	117	117	108	91	80	63	45	36	24	16	12	11	3	1	1	1	0	0	0	0

---

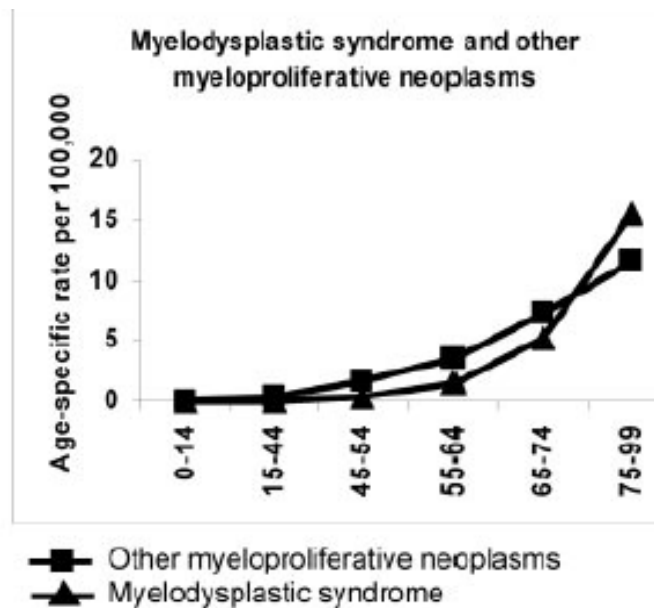
Imatge treta de Dohner et al (2000) (Dohner, Stilgenbauer et al. 2000)

### **1.2.3.5. Síndromes Mielodisplàstiques**

Les SMD són un grup de malalties clonas que s'originen en una cèl·lula mare hematopoètica. Es caracteritzen per presentar una o més citopènies a sang perifèrica, displàsia en una o més de les tres sèries mieloides, hematopoesi ineficaç, presència de blastos fins a un 19% a la sang o a la medul·la òssia i risc de transformació a LMA (Swerdlow, Organización Mundial de la Salud et al. 2008) .

**Incidència:** La taxa crua d'incidència a Europa és de 1,82 casos per cada 100.000 habitants i any, amb una incidència més alta en els homes (2,03 vs 1,62), i una presència més elevada en majors de 60 anys (figura 12) (mediana de 70 anys, 76% > 60 anys) (Sant, Allemani et al. 2010, Visser, Trama et al. 2012) . Tot i així la incidència incrementa fins a 3,78 casos per cada 100.000 habitants l'any quan les dades són tretes d'un sol registre com és el cas de Düsseldorf (Ma, Does et al. 2007, Neukirchen, Schoonen et al. 2011) . En els països asiàtics la població que presenta SMD es 10 anys més jove que la del països occidentals (Kuendgen, Matsuda et al. 2007, Matsuda, Germing et al. 2010) .

**Figura 12. Taxes d'incidència específiques segons el grup d'edat (per100.000 - any) de malalts diagnosticats de SMD entre els anys 2000 i 2002 a Europa** (Sant, Allemani et al. 2010) .



Imatge treta de Sant M et al. (2010)

**Etiologia:** Les SMD poden presentar-se *de novo* o amb una història prèvia a exposició a quimioteràpia o radioteràpia (Mauritzson, Albin et al. 2002) . Les possibles causes de SMD primàries inclouen, exposició a dissolvents orgànics com el benzè, productes químics agrícoles (pesticides, herbicides o fertilitzants), tabac o una història familiar de neoplàsies hematològiques o s'ha suggerit l'exposició a camps electromagnètics (Ciccone, Mirabelli et al. 1993) . Algunes síndromes hereditàries, com l'anèmia de Fanconi, la disqueratosi congènita, la síndrome de Shwachmann-Diamond o la síndrome de Diamond-Blackfan presenten més risc de desenvolupar una SMD (Strom, Gu et al. 2005, Irons, Lv et al. 2005, Du, Fryzek et al. 2010, Lv, Lin et al. 2011, Schnatter, Glass et al. 2012, Goldin, Kristinsson et al. 2012) . Per un altre cantó, individus amb certs polimorfismes genètics en l'enzim glutatió-S-transferasa són susceptibles a l'exposició de leucemògens com els metalls pesants o el benzè (Dahabreh, Giannouli et al. 2010, Kritikou-Griva, Spyropoulou-Vlachou et al. 2012) .

**Alteracions citogenètiques i valor pronòstic:** Les SMD són entitats difícils de diagnosticar i la detecció d'alteracions citogenètiques permet definir la clonalitat del procés i ajuda al diagnòstic. Els pacients amb SMD presenten alteracions

---

cromosòmiques entre un 45% i un 50% (Sole, Luno et al. 2005, Pozdnyakova, Miron et al. 2008, Wang, Wang et al. 2010, Schanz, Tuchler et al. 2012) , essent les anomalies més freqüents en el món occidental, com alteració única, la deleció del braç llarg del cromosoma 5 (5% – 6,4%), la trisomia del cromosoma 8 (3% - 5,8%) i la monosomia o delecions del braç llarg del cromosoma 7 (2% - 4%). S'observen cariotips amb una sola anomalia el 29,5% de les vegades, amb dues anomalies el 6,2% i amb tres o més (cariotip complex) entre un 9% i 17,6% dels casos (Schanz, Steidl et al. 2011) . El cariotips complex s'observa amb més freqüència en les anèmies refractàries amb excé de blastos (AREB) (classificació de les SMD) La principal diferència que s'observa en els països orientals és la raresa de la deleció 5q com alteració única (Chen, Zhao et al. 2005, Matsuda, Germing et al. 2010, Lee, Oh et al. 2010, Wang, Wang et al. 2010) . De totes les anomalies, la que se associa de manera significativa a trets morfològics, analítics i clínics és la deleció 5q-. L'any 1974, Van der Bergue et al, van descriure la Síndrome 5q-, que s'observa entre un 5-10% de les SMD; els pacients són majoritàriament dones amb una mediana d'edat de 67 anys, presenten anèmia macrocítica, xifra de plaquetes normal o augmentada, megacariòcits majoritàriament uni o bilobulats, amb una xifra de blastos a la medul.la òssia inferior al 5% i que difícilment es transformen a LMA (<10% dels casos) (Woessner, Florensa et al. 2000, Swerdlow, Organización Mundial de la Salud et al. 2008) .

En les SMD l'estudi citogenètic no només és una eina diagnòstica sinó que constitueix un factor amb valor pronòstic de primer ordre i té un pes important en tots els sistemes d'estratificació pronòstica. El pacient amb anomalia cromosòmica es pot incloure en un grup pronòstic per estimar la supervivència global, el risc a evolucionar a leucèmia mieloide aguda i per poder escollir el millor tractament. El primer sistema de puntuació internacional que es va descriure va ser el IPSS (International Prognosis Scoring System) (1997), que conjuntament amb el nombre de blastos, el nombre de citopènies i l'alteració citogenètica establia una puntuació pronòstica (Greenberg, Cox et al. 1997) . Des de llavors s'han revisat constantment les categories cromosòmiques, essent la més recent la de Schanz et al (2012),



l'estratificació citogenètica que s'ha definit és la base per el nou IPSS revisat, essent la citogenètica el paràmetre amb més impacte en el pronòstic (taula 3) (Schanz, Tuchler et al. 2012, Greenberg, Tuechler et al. 2012) .

El coneixement de les alteracions moleculars de les anomalies cromosòmiques més freqüents i l'estratificació pronòstica de les SMD implica una determinada pràctica clínica i el benefici de noves estratègies terapèutiques, com és la utilització de la Lenalidomida<sup>r</sup> en pacients amb el 5q-, en els que millora la qualitat de vida amb una disminució de requeriments transfusionals, o aquells casos amb puntuació de risc alt que poden ser susceptibles de trasplantament de progenitors hematopoètics o l'administració d'inhibidors d'ADN metiltransferases<sup>s</sup>. Per tant, l'estudi citogenètic és un procediment indispensable en establir el pronòstic i consegüentment aplicar el tractament més adient.

**Taula 3. Categories cromosòmiques segons el sistema internacional IPSS Revisat** (Greenberg, Cox et al. 1997, Schanz, Tuchler et al. 2012) .

Categories IPSS REVISADA	Percentatge (%)	Anomalia única	Dues anomalies	Cariotip Complex
Molt favorable	2,9	del(11q) -Y	-	-
Favorable	65,7	normal	del(5q) més una	-

<sup>r</sup> Lenalidomida: derivat de la talidomida, inhibeix el creixement i proliferació de les cèl.lules tumorals, acció antiangiogènica.

<sup>s</sup> Inhibidors d'ADN metiltransferases: enzims reguladors dels senyals epigenètics.

		del(5q) del(12p) del(20q)	altra anomalia	
<b>Intermedi</b>	19,2	del(7q) +8 i(17)(q10) +19 més d'una clona no relacionada	Cariotips de dues anomalies que no incloguin el 5q-, -7 o 7q-	-
<b>Advers</b>	5,4	inv(3)/t(3q)/del(3q) -7	-7/del(7q) més una altra anomalia	3
<b>Molt Advers</b>	6,8	-	-	>3







---

## ***2.- HIPÒTESI***

La leucèmia i les SMD presenten diferències en la freqüència del cariotip alterat, en el tipus d'anomalia cromosòmica i en el nombre d'anomalies, en funció de les diferents regions geogràfiques a les que pertanyen. Aquestes diferències poden obeir a diferents causes del medi ambient, ocupacionals, agents infecciosos i/o causes genètiques difícils de demostrar.







---

### ***3.- OBJECTIUS***



---

**1.-** Caracteritzar i determinar la freqüència d'alteracions citogenètiques de pacients afectes de diferents tipus de leucèmies i SMD de quatre regions sanitàries: R1.- Barcelonès Nord, Baix Maresme, R2.- Tarragonès, Terres d'Ebre, R3.- Gironès, Plà de L'Estany, Selva Interior i R4.- L'Hospitalet i el Prat del Llobregat, Baix Llobregat, Garraf, Anoia, Alt Penedès entre els anys 1990 i 2009.

**2.-** Analitzar si existeixen diferències entre les quatre regions sanitàries en els diferents tipus de leucèmia (LMC, LMA, LLA i LLC) i SMD respecte:

- La freqüència de casos amb cariotip alterat
- La freqüència dels diferents tipus d'anomalia cromosòmica
- Presència de cariotip complex
- Distribució dels grups de risc citogenètic



---

## ***4.- PACIENTS, MATERIAL I MÈTODES***



---

#### 4.1. Pacients

Estudi retrospectiu dels resultats citogenètics de pacients diagnosticats de LMC, LMA, LLA, LLC i SMD, realitzats al Laboratori d'Hematologia de l'Hospital Germans Trias i Pujol, Institut Català d'Oncologia (ICO), provinents dels Serveis d'Hematologia dels hospitals Germans Trias i Pujol (Badalona) (ICO-HGTIP), Verge de la Cinta (Tortosa) (HVC) i Joan XXIII (Tarragona) (HJXXIII), Josep Trueta (Girona) (ICO-HJT), Hospital Duran i Reynals (Hospitalet del Llobregat) (ICO-HDiR) entre els anys 1990 i 2009.

*El territori català es divideix en set regions sanitàries, que són demarcacions territorials basades en el principi de descentralització del sistema sanitari públic, que té com a objectiu l'apropament i l'accessibilitat dels serveis a tota la població. Les regions estan delimitades atenent factors geogràfics, socio-econòmics, demogràfics, laborals, epidemiològics, culturals, climàtics, de vies de comunicació homogènies, així com d'instal·lacions sanitàries existents, tot tenint en compte l'ordenació territorial de Catalunya (taula 4, figura 18) (<http://www10.gencat.net/catsalut>).*



**Taula 4. Governos Territorials de Salut (GTS), centres hospitalaris englobats en l'estudi, anys que s'han inclòs pacients segons el centre i població acumulada per període.**

<b>Govern Territorial de Salut</b>	<b>Centres Hospitalaris<sup>a</sup></b>	<b>Període (anys)</b>	<b>Població Acumulada<sup>b</sup></b>
<b>Regió 1</b>			
Barcelonès Nord Baix Maresme  (1139 pacients)	ICO-HGTIP	1990-2009	4.992.431 (1998-2009)
<b>Regió 2<sup>c</sup></b>			
Tarragonès Terres d'Ebre  (504 pacients)	HVC HJXXIII	2001-2009	3.495.968
<b>Regió 3</b>			
Gironès, Pla de l'Estany, Selva Interior  (289 pacients)	ICO-HJT	2003-2009	1.751.906
<b>Regió 4</b>			
L'Hospitalet i el Prat de Llobregat, Baix Llobregat, Garraf, Anoia, Alt Penedès  (720 pacients)	ICO-HDiR	2005-2009	5.857.916

<sup>a</sup> Centres amb atenció hospitalària i especialitzada en Hematologia que corresponen a cada Govern Territorial de Salut

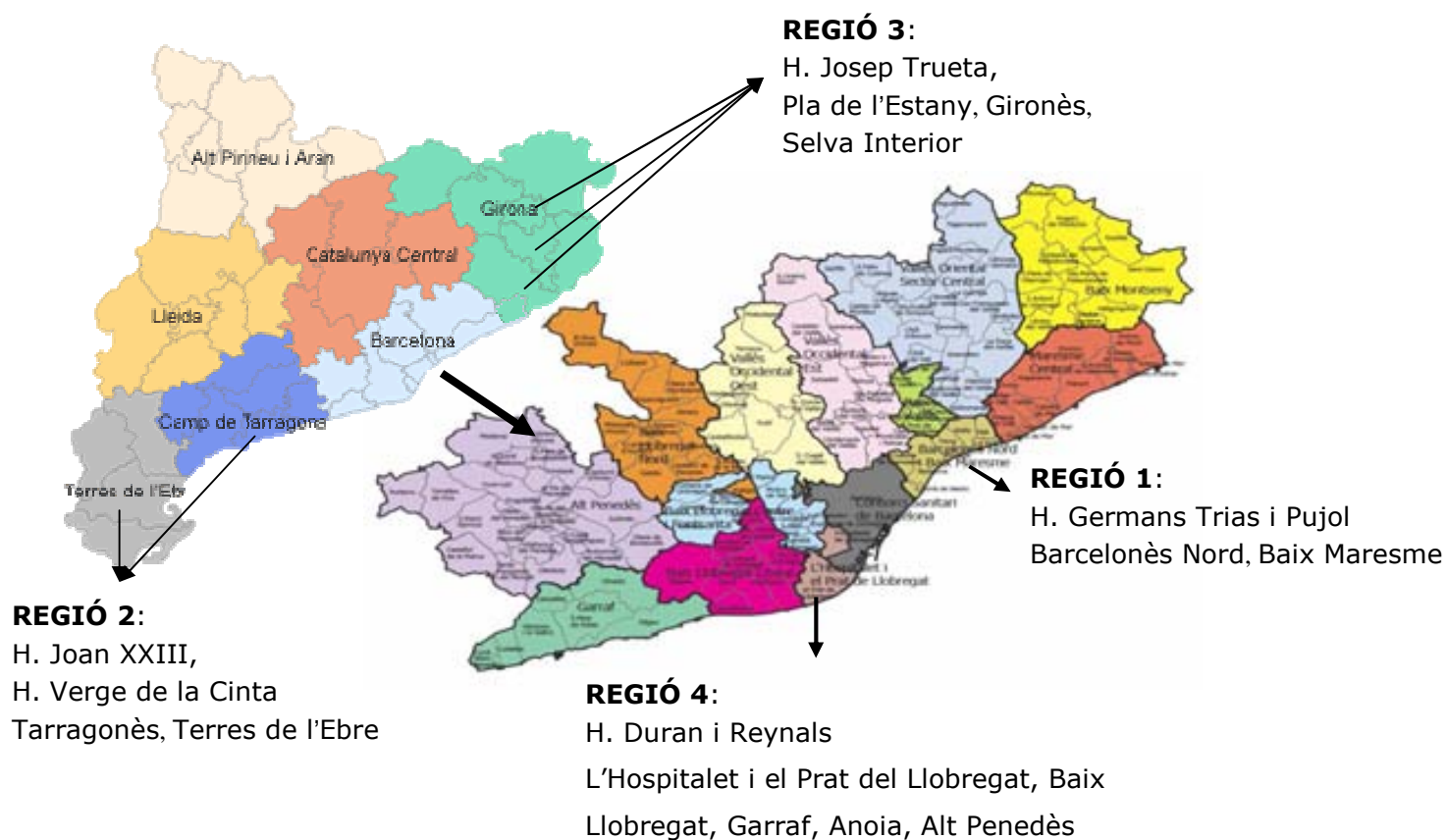
<sup>b</sup> Dades tretes de <http://www.idescat.cat/emex/>

<sup>c</sup> El GTS Tarragonès i la regió sanitària Terres d'Ebre s'han analitzat conjuntament per la

---

seva proximitat geogràfica.

Figura 18. Mapa territorial de les quatre regions sanitàries analitzades ([www10.gencat.net/catsalut/cat/coneix\\_lesregions.htm](http://www10.gencat.net/catsalut/cat/coneix_lesregions.htm)):



S'ha tingut en compte que els pacients diagnosticats en cada un dels centres sanitaris visquessin dins de la cobertura del propi hospital, i que no hi hagués diferències poblacionals degut a la immigració. Tenint en compte els cognoms de cada un dels pacients per regions, en la R1 s'han detectat 13 pacients d'origen africà

de 1139 casos, en la R2 treze pacients de 504, en la R3 sis pacients de 289 i de la R4 set pacients de 720. No s'han trobat diferències estadísticament significatives entre la incidència de població d'origen africà entre regions sanitàries ( $p=0,069$ ).

Possibles factors que podrien considerar-se de risc medi ambiental de les quatre regions analitzades segons els sectors econòmics (any 2009) (<http://www.idescat.cat/>) són:

Exposició a pesticides, herbicides i fertilitzants: Superfície agrícola utilitzada, la proporció d'hectàries respecte a tot el territori català de la R1 (ICO-HGTIP, Barcelonès Nord, Baix Maresme) correspon a un 0,04%, a la R2 (HVC/HJXXIII, Terres de l'Ebre, Tarragonès) un 11,86%, a la R3 (ICO-HJT, Gironès, Pla de l'Estany, Selva Interior) un 3,24% i a la R4 (ICO-HDiR, L'Hospitalet i el Prat de Llobregat, Baix Llobregat, Garraf, Anoia, Alt Penedès) un 5,30%.

Explotacions agràries, la proporció de tinença de ramaderia respecte a tot el territori català de la R1 correspon a un 0,14%, a la R2 un 25,33%, a la R3 un 3,18% i a la R4 un 6,61%.

Exposició a benzè, diòxid de nitrògen i partícules derivades del tràfic rodat: Parc de vehicles, la proporció de vehicles respecte a tot el territori català de la R1 correspon a un 4,61%, a la R2 un 6,00%, a la R3 un 5,69% i a la R4 un 17,82%. Petroquímica situada a Tarragona (R2).

Exposició a radiació ionitzant: Central nuclear d'Ascó situada a la comarca del Baix Ebre i Vandellós situada a la comarca de Baix Camp (GTS Terres de l'Ebre, R2).

Les dades clíniques, de diagnòstic i genètiques recollides han estat: edat i sexe, data d'estudi i diagnòstic segons l'OMS 2008 (Swerdlow, Organización Mundial de la Salud et al. 2008) . Respecte a l'anàlisi de les dades citogenètiques es va tenir en compte, la fórmula cromosòmica segons ISCN (Shaffer, Slovak et al. 2009) , es va categoritzar en normal, alterada o sense creixement, i segons el grup de risc pronòstic citogenètic. Per un altre cantó els cariotips alterats es van classificar segons el nombre d'anomalies i el tipus d'anomalia. El mateix es va fer pels resultats de FISH en la LMC i la LLC.

---

## 4.2. Material

La tesi s'ha centrat en els estudis citogenètics de les hemopaties malignes en les que durant el període d'estudi s'ha aplicat la mateixa tècnica i el tipus de mostra ha estat sempre la mateixa: LMC, LMA, LLA, LLC i SMD. S'ha desestimat incloure els limfomes perquè els criteris per l'estudi citogenètic dels limfomes ha estat uniforme en un sol centre. Respecte al mieloma múltiple, sempre ha estat difícil obtenir les metafases de la cèl·lula plasmàtica, al llarg dels anys i d'acord amb el que s'ha anat descrivint en la literatura científica s'ha anat canviant de tipus de cultiu cel·lular (hores de cultiu, diferents mitògens) per la seva anàlisi, per aquest motiu també s'ha desestimat d'incloure aquesta malaltia.

El tipus de teixit utilitzat per l'estudi citogenètic han estat medul·la òssia (LMC, LMA, LLA i SMD,) i sang perifèrica (LMA i LLA quan la xifra de leucòcits ha estat superior a  $30 \times 10^9/L$  i/o més de un 10% de blastos, i a la LLC) (taula 5).

**Taula 5. Descripció dels diferents tipus de cultiu cel·lular segons hemopatia.**

	LMC*	SMD	LMA*	LLA*	LLC
<b>Tipus de mostra</b>	<i>MO</i>	<i>MO</i>	<i>MO i/o SP**</i>	<i>MO i/o SP**</i>	<i>SP</i>
<b>Temps de cultiu</b>	<i>24h</i>	<i>24h</i>	<i>24h</i>	<i>24h</i>	<i>72h TPA#</i>

\*Les reordenacions *BCR-ABL1* (LMC i LLA), *PML-RARA*, *RUNX1-RUNX1T1*, *CBFB-MYH11* (LMA) i *MLL* (LMA i LLA) han estat analitzades per tècniques RT-PCR o per FISH.

# cultiu estimulat amb TPA, *phorbol 12-myristate 13-acetate*.

\*\*Quan la xifra de leucòcits ha estat superior a  $30 \times 10^9/L$  i/o més de un 10% de blastos.

La mostra de medul·la òssia s'ha obtingut per punció aspiració amb un tròcar, habitualment a nivell esternal o bé de l'espina ilíaca posterosuperior. S'han extret

de 1 a 2 mL de medul·la òssia de la cavitat medul·lar, i s'ha recollit en un tub de centrífuga que contenia 5mL de medi RPMI-1640 i heparina sòdica al 1%. La primera fracció de medul·la òssia que s'aspira és la més rica en cèl·lules en divisió i l'adiant per al cultiu citogenètic; a mesura que l'extracció continua la mostra es contamina amb sang medul·lar i es disminueixen les cèl·lules amb capacitat de divisió.

Malgrat que la medul·la es pot conservar a temperatura ambient o bé a 37<sup>0</sup>C un màxim de 10 hores, i posteriorment a la nevera un màxim de dos dies, les mostres han estat processades al mateix moment de l'extracció.

La mostra de sang perifèrica s'ha obtingut a partir de la vena basilica del braç. S'han extret de 2 a 5 mL de sang perifèrica i s'ha recollit en un tub d'heparina liti. La sang es pot conservar a la nevera a 2-4<sup>0</sup>C i fins a 7 dies, però sempre que ha estat possible les mostres han estat processades el mateix dia de l'extracció.

A nivell tècnic, és important tenir en compte el tipus de material que s'ha d'utilitzar per a la realització d'un estudi citogenètic, que necessàriament correspon al teixit en el qual està més expressada la malaltia. En la LLC l'estudi es pot fer en sang perifèrica en trobar-hi una gran proporció de cèl·lules leucèmiques. En el cas de les SMD i les leucèmies agudes (LA) es requereix l'estudi de medul·la òssia per obtenir la deguda informació citogenètica.

### 4.3. Mètodes

Les tècniques aplicades han estat la citogenètica convencional amb bandes G i FISH (taula 6).

**Taula 6. Descripció dels diferents tipus de sondes de FISH aplicades segons hemopatia.**

Hemopatia	Sondes de FISH
LMC	LSI BCR-ABL sonda de dos colors i de dues fusions, Abbot
SMD	-
LMA	LSI CFBF, inv(16), MLL sonda de dos colors, LSI PML/RARA sonda de dos colors i de dues fusions, Abbot
LLA	LSI BCR-ABL sonda de dos colors i de dues fusions, LSI MLL sonda de dos colors, Abbot
LLC	LSI D13S319 / 13q3413q34 / CEP 12 / LSI ATM / LSI TP53, Abbot

---

#### 4.3.1. Tècnica Convencional de Bandes G

- Interès fisiopatològic: Les alteracions cromosòmiques poden anul·lar o modificar la funció gènica normal i, en conseqüència, el desenvolupament d'una neoplàsia.
- Principi analític: L'objectiu de la tècnica és obtenir cèl·lules en metafase (un mínim de 20 metafases) i observar els 23 parells de cromosomes amb una resolució i patró de bandes suficient per ser analitzats en el microscopi òptic.
- Sembrat de la MO (sota la campana de flux laminar, en condicions d'esterilitat): Es té preparat un flascó amb medi de cultiu (75% RPMI 1640, 2,5% antibiòtic, 2,5% L-glutamina, 1% heparina sòdica) i es marca amb el nº de mostra que s'ha de sembrar, es suplementa amb 1 mL de sèrum boví fetal (20% restant) i s'afegeix una gota de tampó HEPES. El tub amb la mostra es centrifuga a 1700 rpm durant 7 - 10', així aconseguim eliminar el greix i tenir un cultiu més net. Es treu el sobrenedant amb la pipeta Pasteur estèril i s'homogeneïtza el botó cel·lular. S'afegeix al cultiu una quantitat o altra de medul·la òssia amb l'objectiu d'aconseguir una concentració aproximada de 2 a  $3 \times 10^6$ /mL:
  - En les LMC i SMD es posen 0.5 mL del botó cel·lular.
  - En les LMA i LLA es realitzen dos cultius un de 0.1 mL i un de 0.3 mL de botó cel·lular.
- Sembrat de SP (sota la campana de flux laminar, en condicions d'esterilitat): Es té preparat un flascó amb medi de cultiu (RPMI 1640 – 75% -, antibiòtic – 2,5% -, L-glutamina – 2,5% -) i es marca amb el nº de mostra que s'ha de sembrar, es suplementa amb 1 mL de sèrum boví fetal (20% restant) i s'afegeix una gota de hepes. En el cas de la LLC s'afegeix TPA (*phorbol 12-myristate 13-acetate*, concentració 40 ng/ml) que és el mitògen específic per als limfòcits de línia B (50 µL) per a l'estimulació de la divisió cel·lular. En el cas de SP es compta la xifra de leucòcits en un comptador automàtic i s'ajusta la quantitat de mostra per obtenir una concentració final de 2 a  $3 \times 10^6$  cèl·lules/mL.  
Seguidament es posa el cultiu a l'estufa de CO<sub>2</sub> al 5% a 37°C durant 24h pels cultius no estimulats i 72h per les mostres de LLC. L'objectiu de l'incubador de

CO<sub>2</sub> és mantenir l'equilibri carbonat-bicarbonat en el medi de cultiu (37°C, 5% de CO<sub>2</sub> i humitat elevada).

- Aturada de la divisió cel·lular: Abans de treure el cultiu de l'estufa, s'afegeix al flascó 50µL de Colcemid (concentració mare 10 µg/ml) (antimitòtic que atura la divisió cel·lular), que actuarà durant 20' en els casos de cultius no estimulats i 150µL durant 2 hores en els casos de cultius estimulats amb TPA. En aquest moment es té un màxim de cèl·lules en metafase.
- Xoc hipotònic (per òsmosi la membrana cel·lular es posa en tensió i es crea espai citoplasmàtic perquè els cromosomes es separin): La mostra es decanta en un tub de centrífuga i es centrifuga a 1700rpm durant 7'. Després de la centrifugació s'aspira el sobrenedant, s'afegeixen a la mostra de 3 a 4 pipetes Pasteur de xoc hipotònic – KCl 0,075M - (prèviament escalfat a 37°C) i es resuspèn el botó cel·lular després d'haver afegit cada pipeta. Es deixa actuar el xoc hipotònic entre 25 i 30' a 37°C. Passat el temps, s'afegeixen 10 gotes de fixador o solució Carnoy (metanol - àcid acètic 3:1) a cada tub i es resuspèn. Es deixa actuar durant 10' a temperatura ambient.
- Fixació amb solució de Carnoy (lisa els eritròcits, trenca les membranes citoplasmàtiques i fixa els cromosomes en el fus): Es centrifuga, sempre en les mateixes condicions (1700 rpm durant 7'). S'aspira el sobrenedant. Es posen tres pipetes de fixador, es resuspèn després de cada pipeta de fixador i es centrifuga. Es repeteix l'operació un mínim de dues vegades més per eliminar restes cel·lulars. S'obté un botó que conté les metafases i els nuclis en interfase.
- Extensions: després de l'última centrifugació es resuspèn el botó cel·lular i es realitzen les extensions a mà alçada (tres o quatre per cultiu). S'eixuguen en una placa calefactora a 37°C i en un microscopi invertit es controlarà la qualitat de cada extensió.
- Tinció: Les preparacions s'envelleixen amb temperatura (1 hora aproximadament a 100°C). Una preparació de cada cas es submergeix aproximadament un segon en la solució 2xSSC a 65 °C (disposat en un bany) i es renten amb aigua de l'aixeta. Es tenyeix amb una part de colorant Wright i tres parts de solució Sörensen (1mL+3mL per portaobjectes), aproximadament

---

2'30". Si els cromosomes han quedat ben bandejats es tenyeixen la resta d'extensions de la mateixa manera, si no és així, es fa una altra prova amb temps diferents. Amb aquest tipus de tinció s'aconsegueix el patró de bandes G.

- Què pot fallar? Normes generals:
  - Massa tenyits:deixar menys temps de tinció.
  - Tinció uniforme i no es veuen bandes:el porta ha d'estar més estona a la solució 2xSSC a 65°C.
  - Cromosomes desfets: deixar actuar el 2xSSC durant menys temps.
- Expressió de resultats: Es realitza l'estudi dels cromosomes al microscopi òptic segons el patró de bandes G. Sempre que ha estat possible s'han analitzat un mínim de 20 metafases. Per al cariotip s'han descrit els resultats segons ISCN 2009 (Shaffer, Slovak et al. 2009) . El cariotip es va considerar normal quan es va analitzar un mínim de 20 metafases. Una alteració clonal estructural o trisòmica s'ha definit quan s'ha observat en un mínim de dues metafases, i una alteració clonal per monosomia quan s'ha observat en un mínim de tres metafases. S'ha considerat cariotip complex segons les definicions fetes pels diferents grups de tractament en les diferents malalties hematològiques: 3 o més alteracions en el cas de les SMD (Schanz, Tuchler et al. 2012) i LLC (Fiegl, Erdel et al. 2010) , més de tres en les LMA (Grimwade, Hills et al. 2010) i més de 4 en el cas de la LLA (Moorman, Harrison et al. 2007) .
- Límit de detecció: estudi de 20 – 50 metafases
- Interferències en la interpretació: qualitat final dels cromosomes, un nombre baix de mitosis, resolució de les bandes insuficient.

#### **4.3.2. FISH**

- Principi analític: l'objectiu de la tècnica és la de hibridar l'ADN directament a sobre de la cèl·lula o a sobre dels cromosomes mitjançant una sonda marcada amb un fluorocrom.



- Preparació de la mostra i extensió: A partir de cèl·lules fixades amb solució Carnoy es llença una gota a mà alçada en un portaobjectes (unes hores abans de la hibridació). Marcar l'àrea d'hibridació del portaobjectes amb un llapis de diamant. En el cas de portaobjectes ja tenyit per a estudi citogenètic de bandes G, es destenyeix en solució Carnoy fins que desaparegui completament la tinció.
- Preparació de la sonda: Descongelar la sonda a T<sup>a</sup> ambient i protegida de la llum. Per a cada àrea d'hibridació, preparar un tub Eppendorf amb 3,5µL de tampó d'hibridació, 0,5µL de sonda i 1µL d'aigua destil·lada.

Nota: Si es tracta d'una sonda que ja ve mesclada amb el tampó, s'aplica directament a la mostra sense preparació prèvia, com és el cas del kit aplicat per a detectar les alteracions en la LLC.

- Hibridació: Preparar la cambra humida (estufa o *Thermobryte*) a 37°C i la placa d'hibridació a la T<sup>a</sup> adequada segons la sonda o el tipus d'extensió. Aplicar 5µL de sonda damunt l'àrea a hibridar. Ràpidament, es cobreix el portaobjectes amb un cobreobjectes i es segella amb cola.
  - Per a sondes de la casa *Abbot*: desnaturalitzar 3 minuts a 74°C.
  - Per a extensions destenyides: desnaturalitzar 4 minuts a 75°C.

Introduir els portaobjectes en una cambra humida a 37°C i incubar durant tota la nit a les fosques.

Nota: Per a una hibridació ràpida, desnaturalitzar en la placa calefactora durant 4 minuts a 85°C i incubar a la cambra humida a 37°C durant 2 hores a les fosques.

- Rentats post-hibridació (sondes *Abbot* i extensions destenyides): Treure els cobreobjectes que cobreixen el portaobjectes i rentar les extensions en solució 0.4xSSC / 0.3% NP40 a 73°C ±1 durant 2 minuts. Rentar les extensions en solució 2xSSC / 0.1% NP40 a T<sup>a</sup> ambient entre 5 i 60 segons. Deixar eixugar els portaobjectes en vertical, a l'aire i a les fosques.
- Contratinció: Aplicar 10µL de DAPI II sobre l'àrea d'hibridació. Cobrir amb un cobreobjectes.

Aquestes preparacions es mantenen congelades a -20°C i a les fosques.

- Criteris d'anàlisi dels resultats: s'ha realitzat l'anàlisi dels senyals d'hibridació en el microscopi de fluorescència. S'han comptat de 100 a 200 nuclis, depenent del

---

tipus de mostra i/o sonda. S'ha descrit els resultats segons les normes ISCN (2009) (Shaffer, Slovak et al. 2009) .

- Límit de detecció: estudi de 100 – 500 nuclis.
- Interferències d'interpretació: morfologia distorsionada dels cromosomes, soroll de fons, senyal dèbil o inexistent, hibridació poc específica, baixa intensitat de la contracció (DAPI).

#### **4.4. Anàlisi estadística**

- La taxa d'incidència bruta ha estat calculada dividint el nombre de pacients de nou diagnòstic per hemopatia en els anys d'estudi per la població total acumulada.
- S'han calculat les freqüències i percentatges de les següents variables per cada una de les hemopaties: cariotip normal i alterat (bandes G i resultat de FISH), nombre d'anomalies, tipus d'anomalia i grups de risc citogenètic.
- Per si hi havia diferències entre variables categòriques s'ha utilitzat la prova de la Chi<sup>2</sup> o el test exacte de Fisher segons ha estat convenient. Per la variable contínua edat s'ha fet servir la prova de la mediana.
- S'ha considerat estadísticament significatiu quan el valor de la p ha estat < a 0,05.
- El software d'anàlisi utilitzat ha estat el SPSS versió 15.







---

## ***5.- RESULTATS***

### 5.1. Incidència i tipus d'alteracions cromosòmiques en la Leucèmia Mieloide Crònica

**Subjectes d'estudi:** entre els anys 1990 i 2009 s'han estudiat 215 pacients (8,5% de la sèrie) diagnosticats de LMC (199 en fase crònica - FC -, 2 en fase accelerada – FA - i 14 en crisi blàstica – CB -), 129 han estat homes (60%) i 86 dones (40%), amb una mediana d'edat de 53 anys (extrems entre 15 i 85 anys). No s'han observat diferències estadísticament significatives entre regions sanitàries ni per al sexe ni per a l'edat. Tampoc en la proporció de casos diagnosticats en FC o en FA/CB. La mitjana de la taxa bruta d'incidència ha estat de 1,2 casos per 100.000 habitants a l'any, havent-hi diferències estadísticament significatives entre regions sanitàries (R3 una taxa superior de 2 i la R4 una taxa inferior de 0,7)(taula 7).

**Taula 7. Característiques clíniques i d'incidència dels pacients diagnosticats de LMC entre els anys 1990 i 2009 en les quatre regions sanitàries definides:** R1 (Barcelonès Nord, Baix Maresme), R2 (Tarragonès, Terres de l'Ebre), R3 (Gironès, Pla de l'Estany, Selva Interior), R4 (L'Hospitalet i el Prat de Llobregat, Baix Llobregat, Garraf, Anoia, Alt Penedès).

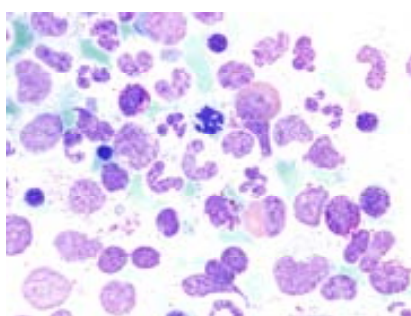
Regió Sanitària	Nombre de casos (casos en FA i CB/% ) (P=0,111)	Incidència (/100.000 habitants-any) (p<0,001)	Homes/Dones (%) (p=0,365)	Edat Mediana (extrems) (p=0,708)
R1	96 (4/4,3%)	1	65/35	52 (15-83)
R2	42 (2/4,7%)	1	55/45	58 (26-85)
R3	38 (4/10,5%)	2	50/50	52 (15-79)
R4	39 (6/15,4%)	0,7	64/36	53 (25-77)
<b>TOTAL</b>	215 (16/7,4%)	1,2	60/40	53 (15-85)

## Resultats citogenètics

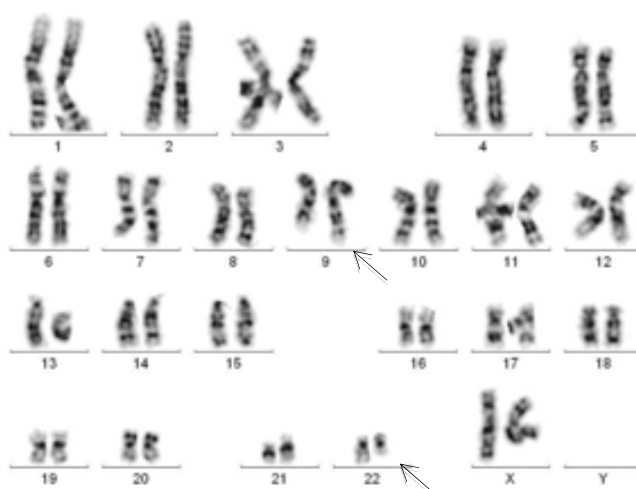
**Citogenètica convencional:** dels 215 mostres, en 4 no es va obtenir creixement i en 13 no va ser valorable, encara que es va observar el cromosoma Ph' en tots ells. Dels 198 que es va poder realitzar l'estudi, en 169 (85,4%) es va observar la translocació t(9;22)(q34;q11.2) (figura 19), en 12 (6,1%) una translocació variant [t(v;22)] i en 17 (8,5%) la translocació t(9;22)(q34;q11.2) acompanyada d'altres anomalies (figura 20).

**Figura 19. Iconografia d'un pacient diagnosticat de LMC en FC:** A.- frotis de medul·la òssia, predomini de la granulopoesi sobre l'eritropoesi amb presència de basofília i eosinofília (Tinció May-Grünwald- Giemsa, x100). B.- cariotip de bandes G amb la presència de la translocació entre els cromosomes 9q34 i 22q11.2: 46,XX,t(9;22)(q34;q11.2).

A.-



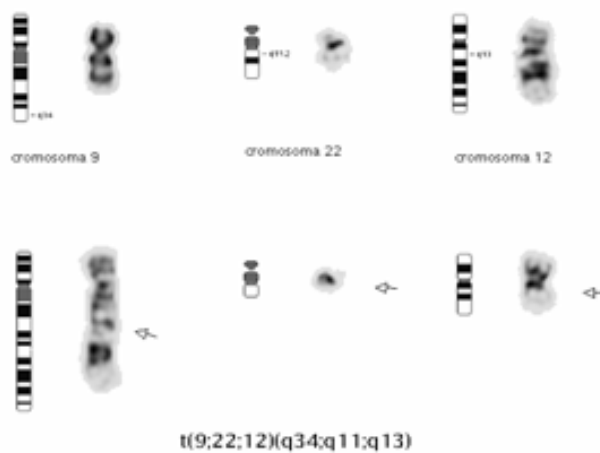
B.-



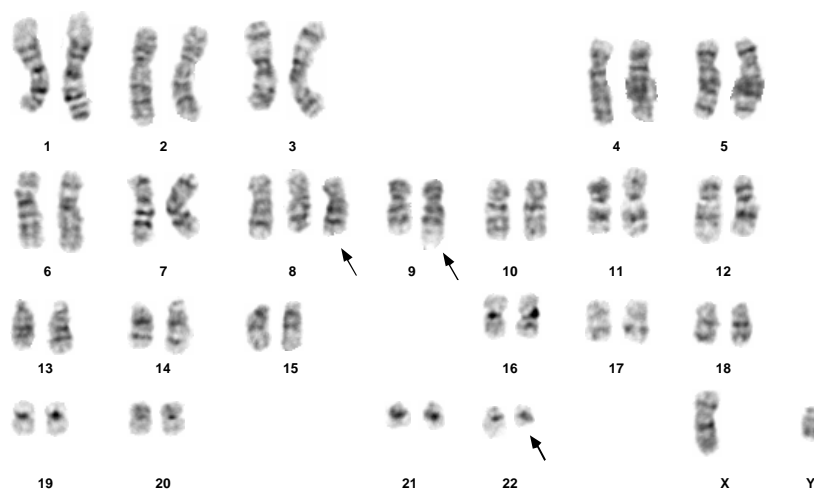


**Figura 20. Cariotips amb la presència del cromosoma Ph': A.-** cas diagnosticat de LMC en FC i translocació variant on es veu implicat un tercer cromosoma. **B.-** cariotip de bandes G d'un pacient diagnosticat de LMC en FC amb la presència de la translocació entre els cromosomes 9q34 i 22q11.2, més una trisomia del cromosoma 8: 47,XY,+8,t(9;22)(q34;q11.2).

**A.-**



**B.-**



Dels casos diagnosticats en FC (182), 11 (6%) presentaven translocació variant i en 6 (3,4%) la t(9;22)(q34;q11.2) anava acompanyada d'altres anomalies. Setze pacients van ser diagnosticats en FA o CB, 1 (6,3%) presentaven translocació variant i en 11 (68,7%) la t(9;22)(q34;q11.2) anava acompanyada d'altres anomalies (taula 8).

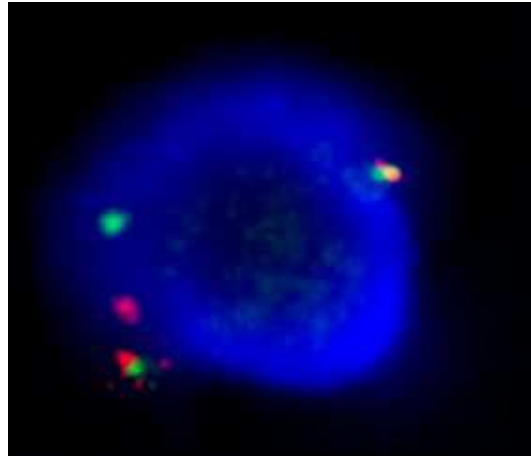
**Taula 8. Distribució dels casos segons si el diagnòstic va ser en FC, FA o en CB.**

	t(9;22)	t(v;22)	t(9;22) més alteracions secundàries	TOTAL
<b>Fase Crònica</b>	165 (90,6%)	11 (6%)	6 (3,4%)	182
<b>Fase Accelerada Crisi Blàstica</b>	4 (25%)	1 (6,3%)	11 (68,7%)	16
<b>TOTAL</b>	169 (85,4%)	12 (6,1%)	17 (8,5%)	198

**FISH:** en 95 casos amb la t(9;22)(q34;q11.2) es va aplicar la tècnica de FISH i es va confirmar el resultat, 18 (18,9%) dels quals van presentar microdeleció del cromosoma derivatiu [der(9)t(9;11)] (figura 21).

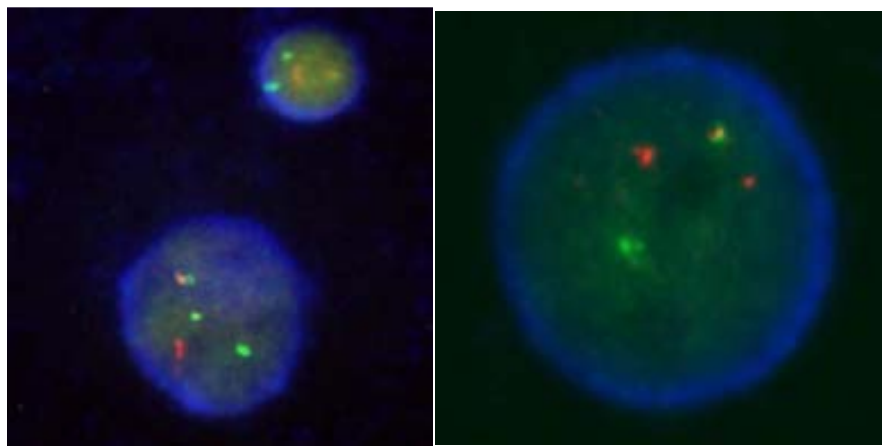
**Figura 21. Casos amb els diferents patrons d'hibridació per la sonda BCR-ABL1 de dos colors i de doble fusió: A.-** cèl·lula amb reordenació estàndard, una senyal vermella (ABL1) i un senyal verd (BCR) més dos senyals de fusió.**B.-**reordenació BCR-ABL1 positiva amb deleció 5' de ABL1, una fusió i un senyal verd.**C.-**reordenació BCR-ABL1 positiva amb deleció 3' de BCR, una fusió i un senyal vermell.

A.-



B.-

C.-



---

### *RESUM*

*En FC, el percentatge de la translocació  $t(9;22)(q34;q11.2)$  és del 90,6%, de  $t(v;22)$  del 6% i la presència d'anomalies acompanyants del 3,4%.*

*En FA o CB, el percentatge de la translocació  $t(9;22)(q34;q11.2)$  és del 25%, de  $t(v;22)$  del 6,3% i la presència d'anomalies acompanyants d'un 68,7%.*

### Anàlisi comparativa dels resultats citogenètics entre regions sanitàries

**Citogenètica convencional:** s'observen diferències estadísticament significatives respecte a la freqüència de casos amb translocació estàndard i la translocació variant entre les quatre àrees sanitàries. La R3 presenta una freqüència significativament més elevada de translocacions variants en el moment del diagnòstic de la LMC. La distribució de cariotips amb el cromosoma Ph' i anomalies acompanyants és similar entre les quatre regions sanitàries (taula 9).

**Taula 9. Distribució dels casos amb translocació estàndard, variant o acompanyada d'altres anomalies segons la regió sanitària.**

<b>P=0,031</b>	<b>t(9;22)</b>	<b>t(v;22)</b>	<b>t(9;22) més alteracions secundàries</b>	<b>Total</b>
<b>R1</b>	76 (87,4%)	4 (4,6%)	7 (8%) (4 casos CB)	87
<b>R2</b>	35 (92,1%)	0 (0%)	3 (7,9%) (2 casos CB)	38
<b>R3</b>	29 (76,3%)	6 (15,8%)	3 (7,9%) (2 casos CB)	38
<b>R4</b>	29 (82,9%)	2 (5,7%) (1 cas CB)	4 (11,4%) (1 cas FA, 2 casos CB)	35
<b>TOTAL</b>	169 (85%)	12 (6%)	17 (9%) (11 casos FA/CB)	198

**FISH:** A la regions R3 s'observa un percentatge més elevat de microdeleccions, però no s'observen diferències estadísticament significatives en la distribució dels casos amb presència o absència de microdelecció (5'ABL1, 3'BCR o 5'ABL1 més 3'BCR) en el cromosoma 9 derivatiu [der(9)t(9;22)] entre les diferents regions sanitàries (taula 10).

**Taula 10. Distribució dels casos amb presència o absència de microdelecció (5'ABL1, 3'BCR**

---

o 5'ABL1 més 3'BCR) en el cromosoma 9 derivatiu [der(9)t(9;22)].

P=0,198	Presència de microdeleció	Absència de microdeleció	Total
R1	3 (13,0%)	20 (87%)	23
R2	4 (25%)	12 (75%)	16
R3	8 (30,8%)	18 (69,2%)	26
R4	3 (10%)	27 (90%)	30
<b>TOTAL</b>	<b>18 (18,9%)</b>	<b>77 (81,1%)</b>	<b>95</b>

### RESUM

*En la R3 ICO-HJT (Gironès, Pla de l'Estany, Selva Interior) s'observa un major percentatge de translocacions variants t(v;22), de manera estadísticament significativa.*

*En la R3 ICO-HJT (Gironès, Pla de l'Estany, Selva Interior) s'observa una tendència a presentar un major percentatge de microdeleccions.*

## 5.2. Incidència i tipus d'alteracions cromosòmiques en la Leucèmia Mieloide Aguda

**Subjectes d'estudi** s'han estudiat 813 pacients (33,6% de la sèrie) diagnosticats de LMA, 466 han estat homes (57,3%) i 347 dones (42,7%), amb una mediana d'edat de 62 anys (extrems entre 15 i 96 anys). No hi ha hagut diferències estadísticament significatives respecte al sexe entre les quatre regions definides. Però sí per l'edat, la mediana de la regió R2 és superior a la resta de regions (65 anys vs 58, 62 i 64 anys). La mitjana de la taxa bruta d'incidència ha estat de 4,4 casos per 100.000 habitants a l'any, havent-hi diferències estadísticament significatives entre regions sanitàries (R4 amb una taxa inferior a la resta de 2,9) (taula 21).

**Taula 21. Característiques clíniques i d'incidència dels pacients diagnosticats de LMA entre els anys 1990 i 2009 en les quatre regions sanitàries definides:** R1 (Barcelonès Nord, Baix Maresme), R2 (Tarragonès, Terres de l'Ebre), R3 (Gironès, Pla de l'Estany, Selva Interior), R4 (L'Hospitalet i el Prat de Llobregat, Baix Llobregat, Garraf, Anoia, Alt Penedès).

Regió Sanitària	Nombre de casos	Incidència (/100.000 habitants-any) (p<0,001)	Homes/ Dones (%) (p=0,365)	Edat Mediana (extrems) (p=0,025)
R1	392	5	56/44	62 (15-96)
R2	165	4,5	56/44	65 (15-89)
R3	87	5	56/44	58 (18-78)
R4	169	2,9	63/37	64 (19-91)
<b>TOTAL</b>	813	4,4	57/43	62 (15-96)

Segons la classificació de l'OMS 2008 un 20% de pacients de LMA presentaven una alteració genètica recurrent, un 38,5% presentaven canvis displàsics o neoplàsia mieloide secundària a tractaments previs (figura 27), un 36,6% presentaven altres tipus de LMA segons trets morfològics i fenotípics, un 1,4% de pacients de leucèmia aguda de fenotip mixt i un 3,5% de pacients que no s'han pogut classificar (taula 22).

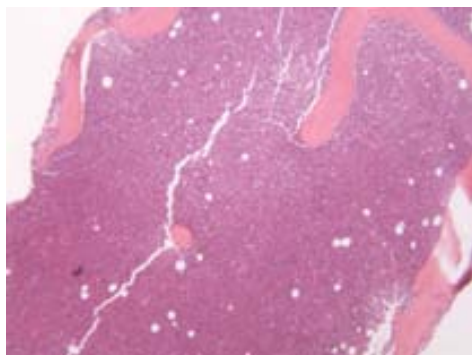
Taula 22. Nombre de casos i percentatge diagnosticats segons la classificació de l'OMS 2008 (tècniques de citogenètica i de biologia molecular).

Entitats de l'OMS 2008	Casos	Percentatge
LMA t(8;21)(q22;q22); <i>RUNX1-RUNX1T1</i>	21	2,6%
LMA inv/t(16)(p13.1q22); <i>CBFB-MYH11</i>	32	3,9%
Leucèmia Promielocítica Aguda t(15;17)(q22;q12); <i>PML-RARA</i>	88	10,8%
LMA t(9;11)(p22;q23); <i>MLLT3-MLL</i>	8	1,0%
LMA t(6;9)(p23;q34); <i>DEK-NUP214</i>	4	0,5%
LMA inv/t(3)(q26.2); <i>EVI1</i>	10	1,2%
LMA amb canvis displàsics / Neoplàsia Mieloide relacionada a tractaments previs	301/12	37%/1,5%
LMA Mínimament Diferenciada	25	3,1%
LMA sense Maduració	68	8,5%
LMA amb Maduració	45	5,5%
Leucèmia Mielomonocítica Aguda	66	8,1%
Leucèmia Monoblàstica i Monocítica Aguda	76	9,4%
Leucèmia Eritroide Aguda	15	1,8%
Leucèmia Megacarioblàstica Aguda	-	-
Panmielosi Aguda amb Mielofibrosi	2	0,2%
Leucèmia Aguda Indiferenciada	5	0,6%
Leucèmia Aguda de fenotip mixt amb la t(9;22)(q34;q11.2); <i>BCR-ABL1</i>	1	0,1%
Leucèmia Aguda de fenotip mixt B/mieloide	2	0,2%
Leucèmia Aguda de fenotip mixt T/mieloide	4	0,5%
LMA sense tipificar	28	3,5%

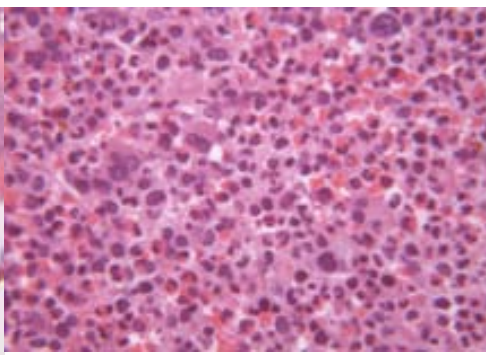


**Figura 27. Iconografia d'un pacient diagnosticat de Neoplàsia Mieloide relacionada a tractaments previs (t-NMP), secundari al tractament rebut per una LMA amb cariotip normal.** El cariotip final de la t-NMP després d'aplicar diferents tècniques va ser una deleció del braç curt del cromosoma 8(p21.3), una deleció del braç curt del cromosoma 12(p12.3p13) (*ETV6*) i un guany parcial del braç llarg del cromosoma 21(q22qter) (*RUNX1*): **A.-** biòpsia de medul·la òssia on s'observa infiltració massiva per la població hematopoètica, amb desaparició del greix (inclusió en parafina, tinció hematoxilina-eosina, x2); **B.-** hiperplàsia de la sèrie granulopoètica i quasi absència de la sèrie eritropoètica, presència d'eosinofília (inclusió en parafina, tinció hematoxilina-eosina, x40); **C.-** cariotip amb patró de bandes G del moment del diagnòstic de t-NMP: 46,XX,add(8)(p21); **D.-** resultats de l'estudi de SNP array 6.0 (Affymetrix®); **E.-** validació mitjançant la tècnica de FISH de les troballes de l'estudi SNP array; s'observen tres senyals vermelles que corresponen a les tres còpies de *RUNX1*, i una sola còpia verda que correspon a la pèrdua d'un dels al·lels del gen *ETV6*.

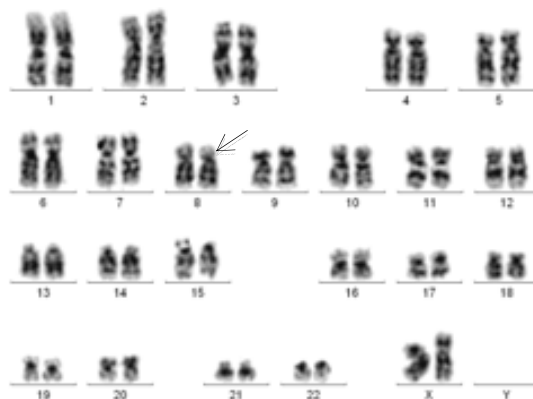
**A.-**



**B.-**



**C.-**

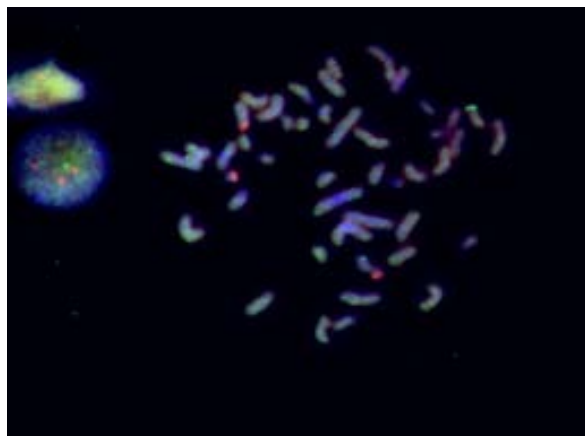


D.-

Regió	Estat	Mida (Mb)	Localització cromosòmica	Gens destacats
7q11.22qter	LOH	88.46	70358706-158821424	<i>EZH2</i>
8pterp21.3	Deleció	19.75	0-19751449	
12p13.2p12.3	Deleció	4.97	11322583-16294273	<i>ETV6</i>
21q22.12qter	Guany	11.71	35206594-46921373	<i>RUNX1</i>

<sup>1</sup> Basat en els criteris definits per: Heinrichs et al., 2009 i Maciejewski et al., 2009.

E.-



### **Resultats citogenètics:**

Dels 813 casos amb estudi citogenètic, en 59 casos no va ser valorable el cariotip o no es va obtenir creixement (7,3%); en 328 casos el cariotip va ser normal (40,3%) i en 426 el cariotip estava alterat (52,4%). Dels 426 casos amb cariotips alterats 203 presentaven una sola anomalia, 65 presentaven dues anomalies, 25 presentaven tres anomalies i 132 presentaven més de tres anomalies (taula 23).

**Taula 23. Descripció dels resultats citogenètics en els pacients diagnosticats de LMA.**

<b>Cariotip</b>	<b>Nombre de casos</b>	<b>Percentatge</b>
Normal	328/754	(43,5%)
Alterat	426/754	(56,5%)
<b>Nº anomalies per cas</b>		
1 anomalia	203/426	(47,7%)
2 anomalies	65/426	(15,3%)
3 anomalies	25/426	(5,9%)
>3 anomalies	132/426	(31,1%)
<b>Una anomalia</b>		
t(15;17)	39/203	(19,2%)
t(8;21)	12/203	(5,9%)
inv/t(16)	16/203	(7,9%)
-7/7q	17/203	(8,4%)
+8	29/203	(14,3%)
t(11q23)	11/203	(1,6%)
3q26	6/203	(5,4%)
5q	9/203	(4,4%)
altres	64/203	(32,9%)
<b>Dues anomalies</b>		
t(15;17)	9/65	(13,8%)
t(8;21)	5/65	(7,7%)
inv/t(16)	8/65	(12,3%)
-7/7q-	5/65	(7,7%)
+8	7/65	(10,8%)
t(11q23)	5/65	(7,7%)
3q26	5/65	(7,7%)
altres	21/65	(32,3%)
<b>Cariotip Monosòmic*</b>		
No Monosòmic	195	(59,6%)
Monosòmic	103	(40,4%)

Grup de Risc Citogenètic		
Favorable	106	(14,1%)
Intermedi	465	(61,7%)
Advers	183	(24,2%)

\*Cariotip monosòmic: cariotips alterats amb dues o més monosomies i cariotips alterats amb una monosomia més una alteració estructural com a mínim.

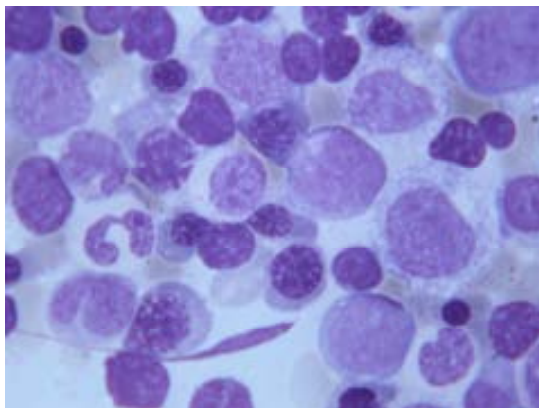
Per ordre, les alteracions més freqüents han estat el cariotip complex (132 casos) (figura 28), la  $t(15;17)(q22;q12)$  (58 casos) (figura 29), trisomia 8 com alteració única (41 casos),  $inv(16)(p13q22)$  (27 casos) (figura 30),  $t(8;21)(q22;q22)$  (21 casos) (figura 31), translocacions en 11q23 (17 casos) (figura 32), monosomia del cromosoma 7 (15 casos amb cariotip no complex), anomalies en 3q26 (15 casos) (figura 33), delecions del cromosoma 5q (14 casos amb cariotip no complex) i delecions 7q (11 casos amb cariotip no complex).

**Figura 28. Iconografia d'un pacient diagnosticat de LMA amb canvis displàsics: A.- frotis de**

medul·la òssia, s'observen blastos de tipus I i II d'aspecte mioide, displàsia eritroblàstica i degranulació en la sèrie granulocítica (Tinció May-Grünwald – Giemsa, x100); **B.-** cariotip amb patró de bandes G que presenta 44 cromosomes i un cariotip complex (>4 anomalies) amb anomalies dels cromosomes 3, 5, 7, 10, 16, 17, 18, 19, 20 i 21:

44,XY,-3,add(5)(q15),del(7)(q32),add(10)(p15),add(16)(p13),add(17)(p13),-18,add(20)(p13),-20,i(21)(q10),+mar

**A.-**



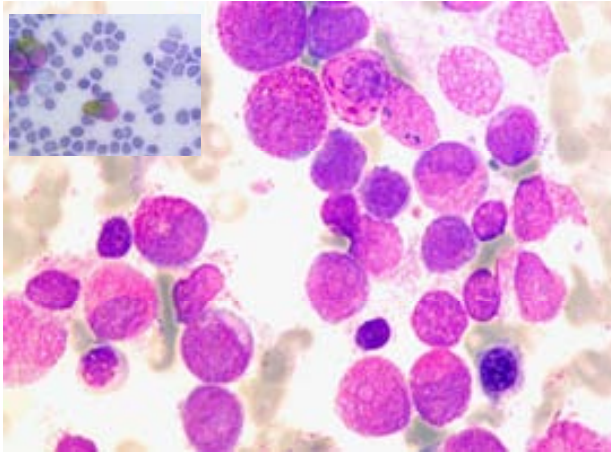
**B.-**



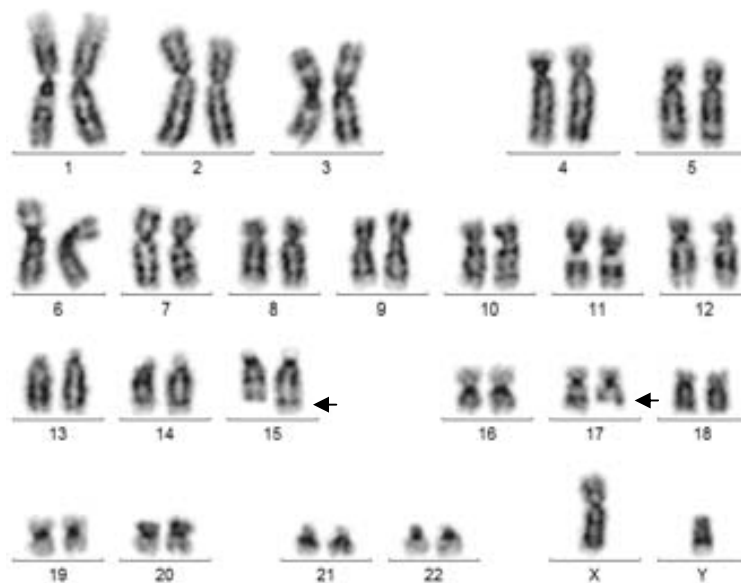
**Figura 29. Iconografia d'un pacient diagnosticat de LMA i t(15;17)/PML-RARA: A.-** frotis de

medul·la òssia, s'observen promielòcits amb granulació atzurófila i altres amb bastons d'Auer (Tinció May-Grünwald-Giemsa, x100), tinció de mieloperoxidasa positiva; **B.-** cariotip amb patró de bandes G, cariotip: 46,XY,t(15;17)(q22;q12).

**A.-**

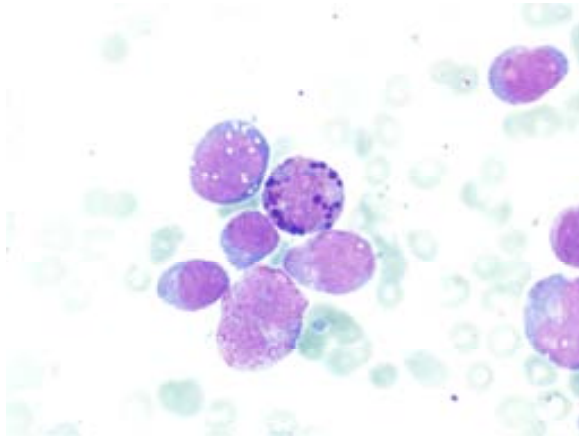


**B.-**

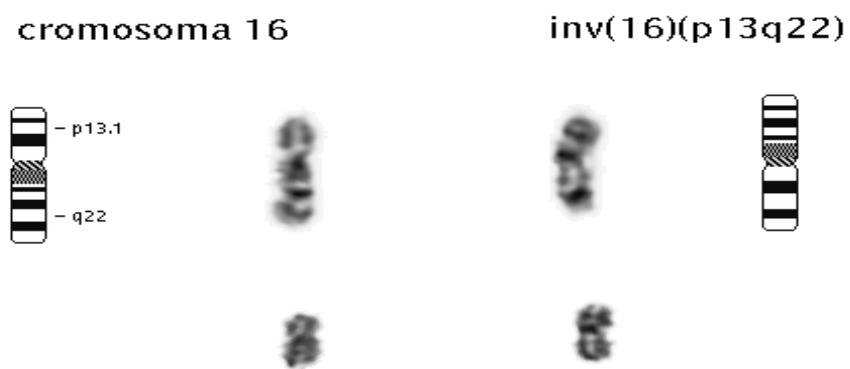


**Figura 30. Iconografia d'un pacient diagnosticat de LMA i inv(16)/CBFB-MYH11: A.-** frotis de medul·la òssia amb eosinofília aberrant (Tinció May-Grünwald-Giemsa, x100); **B.-** inversió pericèntrica del cromosoma 16 (patró de bandes G).

A.-



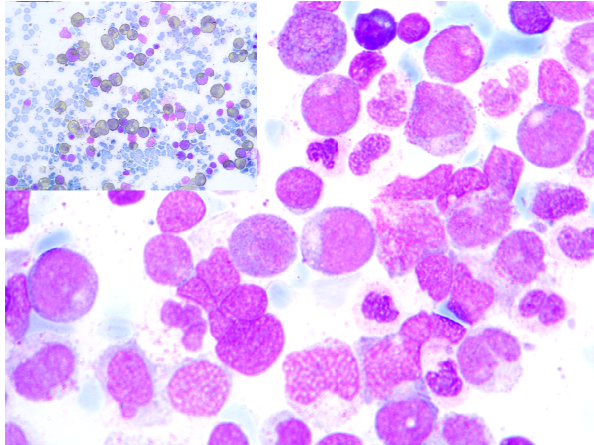
B.-



**Figura 31. Iconografia d'un pacient diagnosticat de LMA i t(8;21)/RUNX1-RUNX1T1: A.-** frotis de medul·la òssia, s'observen blastos de mida intermedia-gran amb granulació, relació

de nucli citoplasma elevada, cromatina fina i presència d'un nuclèol (Tinció May-Grünwald-Giemsa, x100), tinció de mieloperoxidasa positiva; B.- cariotip amb patró de bandes G, 46,XY,t(8;21)(q22;q22).

A.-



B.-

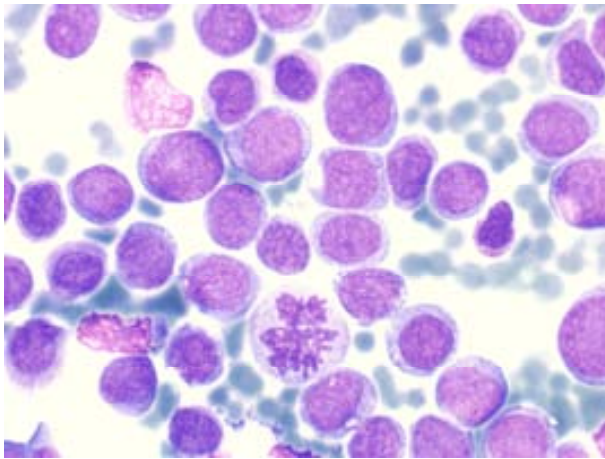


**Figura 32. Iconografia d'un pacient diagnosticat de LMA i t(9;11)/*MLL3-MLL*: A.- frotis de medul·la òssia, s'observen blastos d'aspecte monocitoide de mida gran, citoplasma amb**

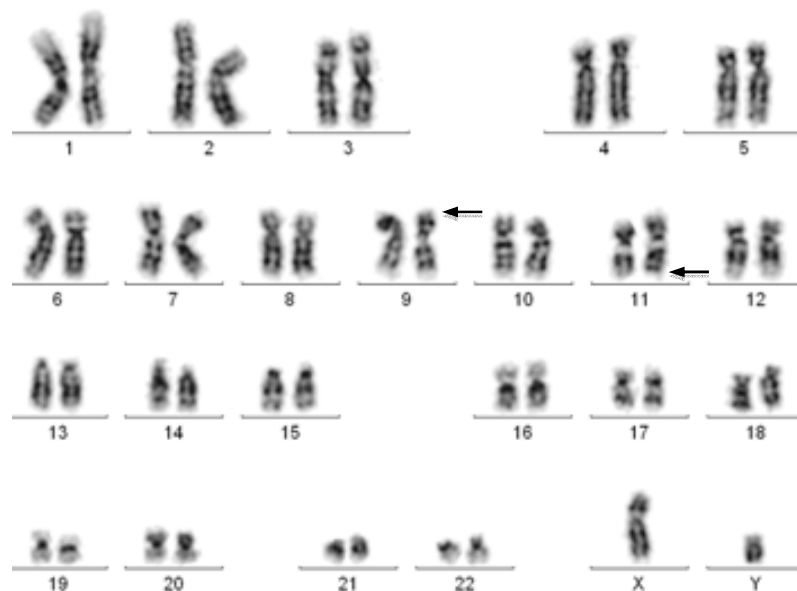


granulació atzurófila i nucli irregular(Tinció May-Grünwald-Giemsa, x100); **B.-** cariotip amb patró de bandes G, 46,XY,t(9;11)(p22;q23).

**A.-**



**B.-**

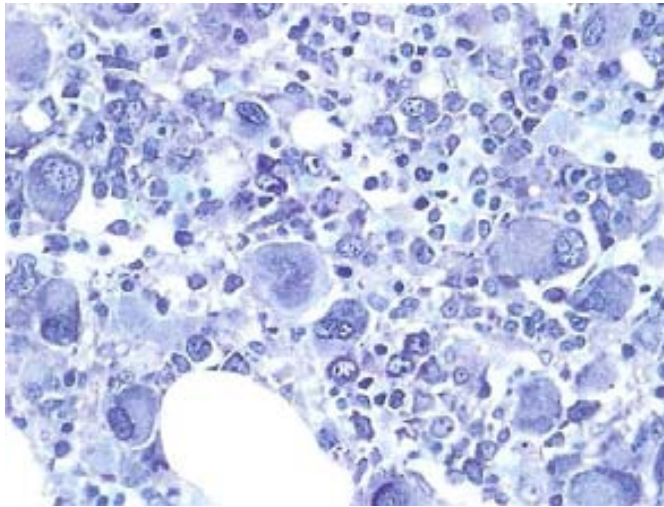


**Figura 33. Iconografia d'un pacient diagnosticat de LMA i inv(3)/RPNt·EVI1: A.-** biòpsia de medul·la òssia inclosa en metacrilat i tinció de Giemsa, s'observa hiperplàsia de megacariòcits petits i nucli hipolobulat; **B.-** cariotip amb patró de bandes G,

---

46,XY,inv(3)(q21q26).

A.-



B.-



El cariotip constitueix un dels principals factors de risc independent en la LMA. Està ben establert que el pronòstic en funció del cariotip es pot dividir en tres grups de

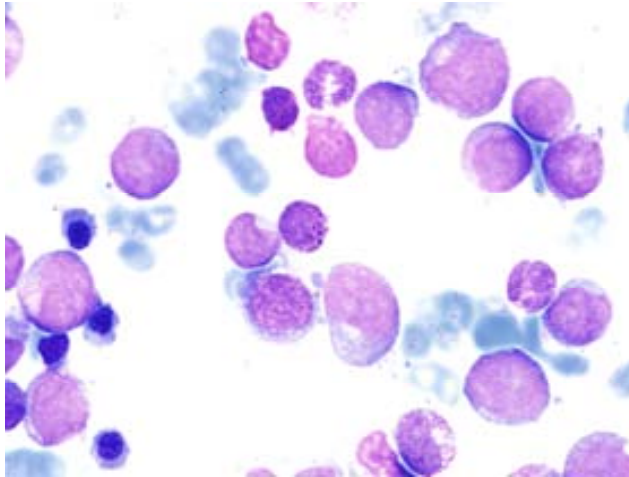
risc segons el grup d'estudi MRC 2010 (Grimwade, Hills et al. 2010) : *favorable*, inclou les translocacions  $t(15;17)(q22;q12)$ ,  $t(18;21)(q22;q22)$  i  $t(16;16)/inv(16)(p13q22)$  , *advers*, inclou les anomalies dels cromosomes 5 i 7, la reordenació de 3q26, la translocació  $t(6;9)(p23;q34)$  (figura 34), les translocacions de 11q23 a excepció de la  $t(9;11)(p22;q23)$  i  $t(11;19)$ , i els cariotips complexos, i en el grup *intermedi* s'inclouen el cariotip normal i la resta d'alteracions. D'acord amb aquesta classificació en la nostra sèrie tenim 106 casos inclosos en el grup favorable, 465 en el grup intermedi i 183 en el grup advers.

**Figura 34. Iconografia d'un pacient diagnosticat de LMA i  $t(6;9)/DEK-NUP214$ : A.-** frotis de medul·la òssia, s'observen blastos mieloides barrejats amb precursors eritroides displàsics i basòfils (Tinció May-Grünwald – Giemsa, x100); **B.-** cariotip amb patró de bandes G,

---

46,XX,t(6;9)(p23;q34).

A.-



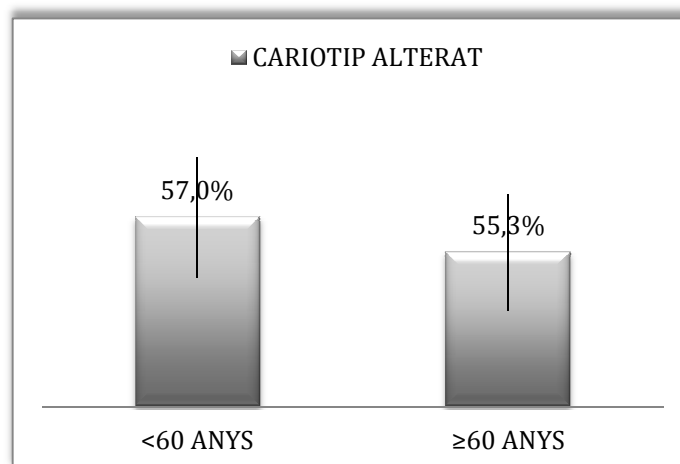
B.-



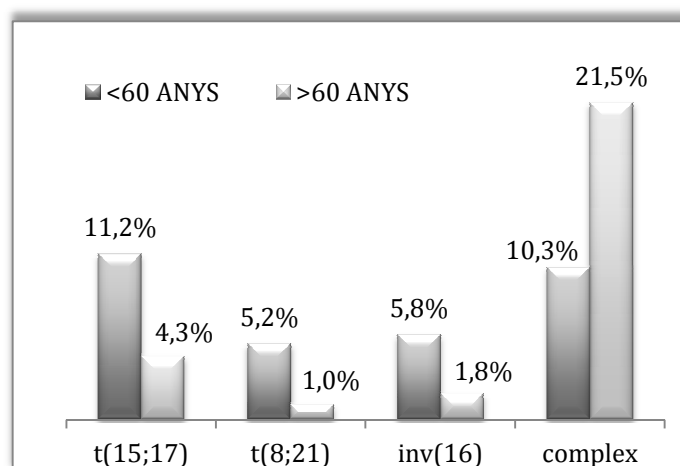
**Resultat citogenètic segons l'edat:** no s'han trobat diferències estadísticament significatives respecte al percentatge de casos amb cariotip alterat entre el grup de pacients menors de 60 anys i el grup de pacients de 60 o més anys (figura 35). S'han trobat diferències significatives en el tipus d'anomalia, les anomalies que

confeixen bon pronòstic, t(15;17), t(8;21) i inv(16) han estat més freqüents en el grup de pacients menors de 60 anys i el cariotip complex ha estat més freqüent en el grup de pacients de 60 anys o més grans (figura 36).

**Figura 35. Percentatge de casos amb cariotip alterat entre els dos grups d'edat definits ( $p=0,652$ ).**

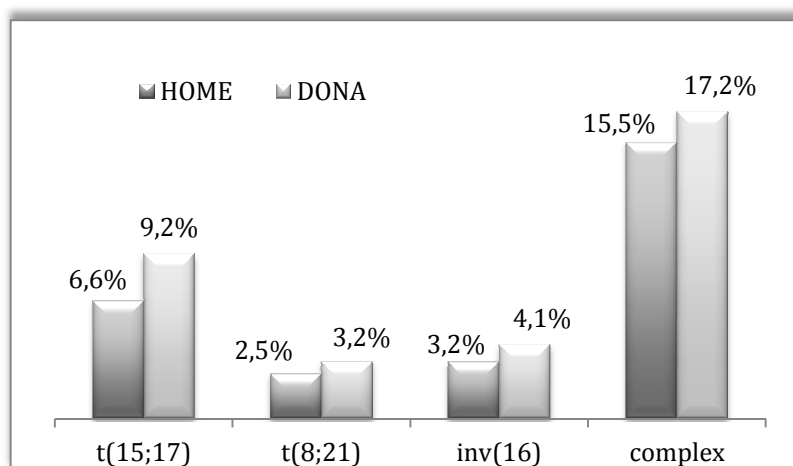


**Figura 36. Representació gràfica del percentatge per tipus d'anomalia cromosòmica entre els dos grups d'edat definits ( $p<0,001$ ).**



**Resultat citogenètic segons el sexe:** el percentatge de casos amb cariotip alterat és molt semblant en els dos sexes, 57,5% per als homes i 55,1% per les dones ( $p=0,511$ ). A l'hora d'analitzar el tipus d'anomalia cromosòmica segons el sexe, tampoc s'observen diferències estadísticament significatives (figura 38).

Figura 37. Representació gràfica del percentatge per tipus d'anomalia mçes freqüent segons el sexe ( $p=0,903$ ).



**RESUM**

*En la LMA el percentatge de casos amb cariotip alterat és del 56,5%.*

*Les anomalies cromosòmiques més freqüents han estat la t(15;17), trisomia 8, inv(16), la monosomia/del(7q), la t(8;21) i les t(v;11).*

*Un 31,1% dels casos presenten cariotip complex.*

*La t(15;17), la t(8;21) i la inv(16) són més freqüents en els pacients menors de 60 anys, i el cariotip complex és més freqüent en els pacients de 60 anys o més grans, de manera estadísticament significativa.*

## Anàlisi comparativa dels resultats citogenètics entre regions sanitàries

**Cariotip i tipus d'anomalia:** no existeixen diferències estadísticament significatives respecte al cariotip alterat entre les quatre regions sanitàries analitzades. El percentatge de casos amb cariotip alterat entre les quatre regions està entre el 53,5 i el 60,7% (taula 24).

**Taula 24.** Distribució de casos amb cariotip normal i casos amb cariotip alterat segons la regió sanitària.

(p=0,560)	Normal	Alterat	Total
R1	161 (44,6%)	200 (55,4%)	361
R2	73 (46,5%)	84 (53,5%)	157
R3	33 (39,3%)	51 (60,7%)	84
R4	61 (40,1%)	91 (59,9%)	152
<b>TOTAL</b>	<b>328 (43,6%)</b>	<b>426 (56,4%)</b>	<b>754</b>

Tampoc existeixen diferències estadísticament significatives respecte del tipus d'anomalia més freqüent i la regió sanitària, tot i així hi ha una tendència en la R3 per presentar un percentatge més elevat de més casos amb t(15;17)(q22;q12) (taula 25).

**Taula 25:** Distribució de les tres anomalies més freqüents segons la regió sanitària.

(p=0,063)	inv(16)	t(8;21)	t(15;17)	TOTAL
R1	19 (30,2%)	9 (14,3%)	35 (55,6%)	63
R2	2 (16,7%)	5 (41,7%)	5 (41,7%)	12
R3	0 (0%)	2 (16,7%)	10 (83,3%)	12
R4	6 (31,6%)	5 (26,3%)	8 (42,1%)	19
<b>TOTAL</b>	<b>27(25,5%)</b>	<b>21 (19,8%)</b>	<b>103 (54,7%)</b>	<b>106</b>



**Cariotip complex:** no s'observen diferències estadísticament significatives quan es valoren els cariotips amb una, dues i tres anomalies enfront dels cariotips amb més de tres anomalies (taula 26).

**Taula 26. Distribució del nombre de cariotips de 1-3 anomalies i de cariotips amb més de tres anomalies.**

(p=0,465)	1-3 Anomalies	>3 Anomalies	TOTAL
R1	145 (72,5%)	55 (27,5%)	200
R2	56 (66,7%)	28 (33,3%)	84
R3	34 (68,0%)	16 (32,0%)	50
R4	58 (63,7%)	33 (36,3%)	91
<b>TOTAL</b>	<b>293 (68,9%)</b>	<b>132 (31,1%)</b>	<b>753</b>

**Grups de risc citogenètic:** s'observen diferències estadísticament significatives si es comparen els diferents grups de risc citogenètic segons el grup d'estudi MRC 2010 entre regions, en la regió R2 existeix una menor proporció de casos del grup favorable (taula 27). Si s'analitza la distribució entre el cariotip normal, les translocacions t(8;21),t(15;17) i la inversió inv(16) i el cariotip monosòmic entre les quatre regions sanitàries, no s'han trobat diferències estadísticament significatives (taula 28).

**Taula 27. Distribució del nombre de casos segons el grup de risc citogenètic del grup MRC i les regions sanitàries.**

(p=0,048)	Favorable	Intermedi	Advers	TOTAL
R1	63 (17,5%)	223 (61,8%)	75 (20,8%)	361
R2	12 (7,6%)	104 (66,2%)	41 (26,1%)	157
R3	12 (14,3%)	50 (59,5%)	22 (26,2%)	84
R4	19 (12,5%)	88 (57,9%)	45 (29,6%)	152
<b>TOTAL</b>	<b>106 (14,1%)</b>	<b>465 (61,7%)</b>	<b>183 (24,3%)</b>	<b>754</b>

**Taula 28. Distribució del cariotip normal, de les anomalies t(15;17), t(8;21) i inv(16) i el cariotip monosòmic entre les diferents regions sanitàries.**

<b>(p=0,085)</b>	<b>Normal</b>	<b>t(15;17)</b>		<b>Monosòmic</b>	<b>TOTAL</b>
		<b>t(8;21)</b>	<b>inv(16)</b>		
<b>R1</b>	161 (44,6%)	63 (18,0%)	85 (24,3%)	41 (11,7%)	350
<b>R2</b>	73 (46,5%)	12 (7,8%)	48 (31,2%)	21 (13,6%)	154
<b>R3</b>	33 (39,3%)	12 (14,8%)	23 (28,4%)	13 (16,0%)	81
<b>R4</b>	61 (40,1%)	19 (12,9%)	39 (26,5%)	28 (19,0%)	147
<b>TOTAL</b>	328 (43,6%)	106 (14,5%)	195 (26,6%)	103 (14,1%)	732

*RESUM*

*A la R2 HJXXII/HVCI (Tarragonès, Terres de l'Ebre) s'observa una menor freqüència de casos definits de bon pronòstic, de manera estadísticament significativa.*

### 5.3. Incidència i tipus d'alteracions cromosòmiques en la Leucèmia Limfoblàstica Aguda

**Subjectes d'estudi:** s'han estudiat 219 pacients (9% de la sèrie) diagnosticats de LLA, 120 han estat homes (54,8%) i 99 dones (45,2%), amb una mediana d'edat de 39 anys (extrems entre 15 i 87 anys). Entre regions sanitàries no hi ha hagut diferències estadísticament significatives respecte al sexe, ni tampoc per l'edat. La mitjana de la taxa bruta d'incidència ha estat de 1,4 casos per 100.000 habitants i any, havent-hi diferències estadísticament significatives entre regions sanitàries (R4 amb una taxa inferior a la resta de 0,4) (taula 29).

**Taula 29. Característiques clíniques i d'incidència dels pacients diagnosticats de LLA entre els anys 1990 i 2009 en les quatre regions sanitàries definides:** R1 (Barcelonès Nord, Baix Maresme), R2 (Tarragonès, Terres de l'Ebre), R3 (Gironès, Pla de l'Estany, Selva Interior), R4 (L'Hospitalet i el Prat de Llobregat, Baix Llobregat, Garraf, Anoia, Alt Penedès).

Regió Sanitària	Nombre de casos	Incidència (/100.000 habitants-any) (p<0,001)	Homes/ Dones (%) (p=0,898)	Edat Mediana (extrems) (p=0,161)
R1	127	2	55/45	39 (15-87)
R2	33	1	54/46	39 (15-81)
R3	34	2	50/50	31 (15-74)
R4	25	0,4	60/40	45 (19-74)
<b>TOTAL</b>	219	1,4	55/45	39 (15-87)

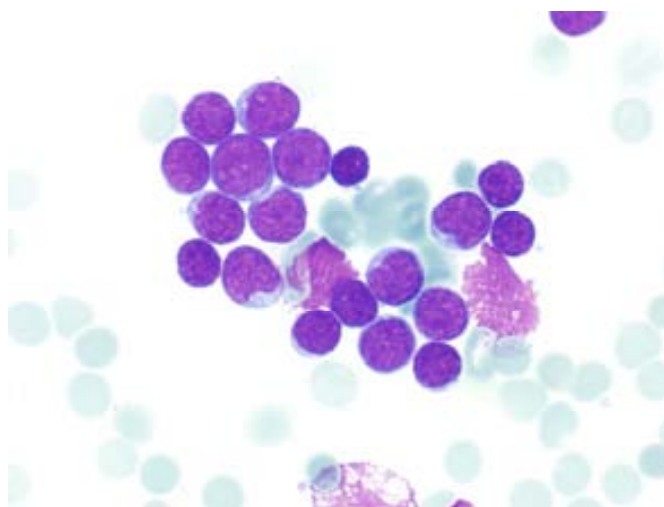
El percentatge de casos amb alteració genètica recurrent ha estat del 35,2%, de LLA amb fenotip B del 41,6% i de LLA amb fenotip T del 16,9% (figura 39) (taula 30).

**Taula 30. Distribució del nombre i percentatge de casos segons la classificació de l'OMS 2008 en la LLA.**

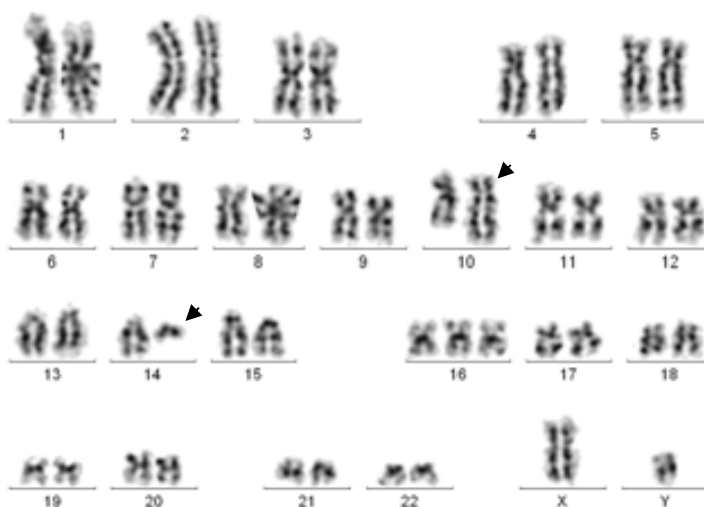
Entitats de l'OMS	Casos	Percentatge
Leucèmia Limfoblàstica B	91	41,6%
LLA B t(9;22)(q34;q11.2); <i>BCR-ABL1</i>	49	22,4%
LLA B t(v;11q23); <i>MLL</i>	6	2,7%
LLA B amb hiperdiploïdia	8	3,7%
LLA B amb hipodiploïdia	6	2,7%
LLA B t(1;19)(q23;p13.3); <i>E2A-PBX1 (TCF3-PBX1)</i>	8	3,7%
Leucèmia Limfoblàstica T	37	16,9%

**Figura 38: Iconografia d'un pacient diagnosticat de LLA de fenotip T i la t(10;14):** A.- frotis de medul.a òssia, s'observen blastos de morfologia limfoide amb nucli i cromatina irregular i presència de molts nuclèols (Tinció May-Grünwald – Giemsa, x100); B.- cariotip amb bandes G, 47,XY,t(10;14)(q24;q11),+16.C.- FISH amb la sonda d'ADN del locus *TCRAD* que es localitza en el cromosoma 14q11. Els senyals verd i vermell separats representen la translocació.

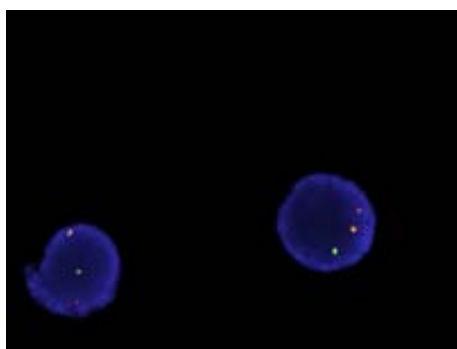
**A.-**



B.-



C.-



### Resultats citogenètics

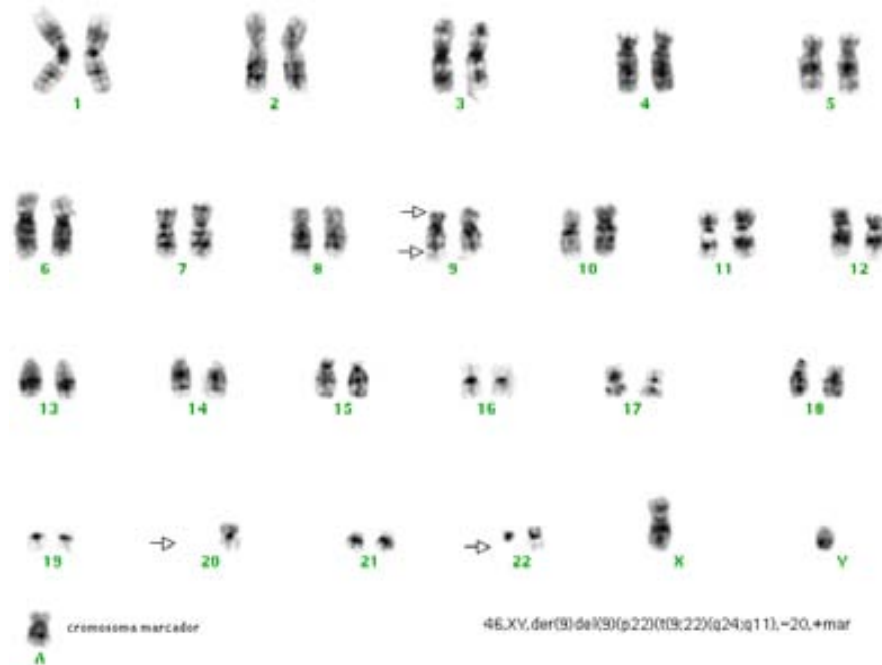
S'han realitzat 219 estudis citogenètics, en 37 no s'ha obtingut creixement (16,9%), en 45 s'ha obtingut un cariotip normal (20,5%) i en 137 el cariotip ha estat alterat (62,6%).

Dels 121 casos amb cariotip alterat i una fórmula cromosòmica, 41 presentaven una sola anomalia, 23 dues anomalies, 13 tres anomalies, 5 quatre anomalies i finalment es varen observar més de quatre anomalies en 39 casos; en la resta de casos no es va poder obtenir una fórmula cromosòmica definida per determinar correctament el nombre d'anomalies.

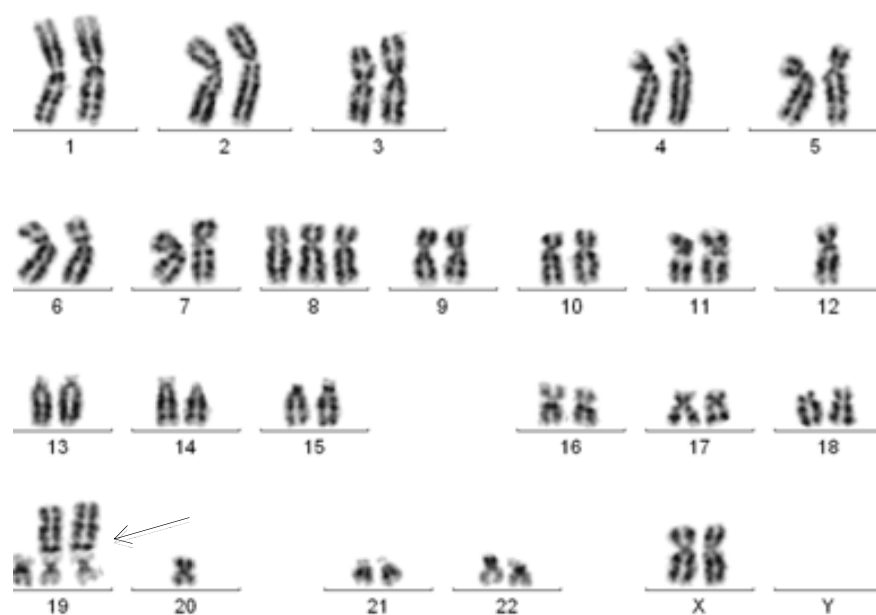
Les anomalies més freqüents han estat:  $t(9;22)(q34;q11.2)$  (figura 39) en 47 casos, hiperdiploïdia en 9 casos,  $t(1;19)(q23;p13.3)$  (figura 40) en 8 casos, hipodiploïdia en

6 casos i t(4;11)(q21;q23) (figura 41) en 5 casos (taula 31).

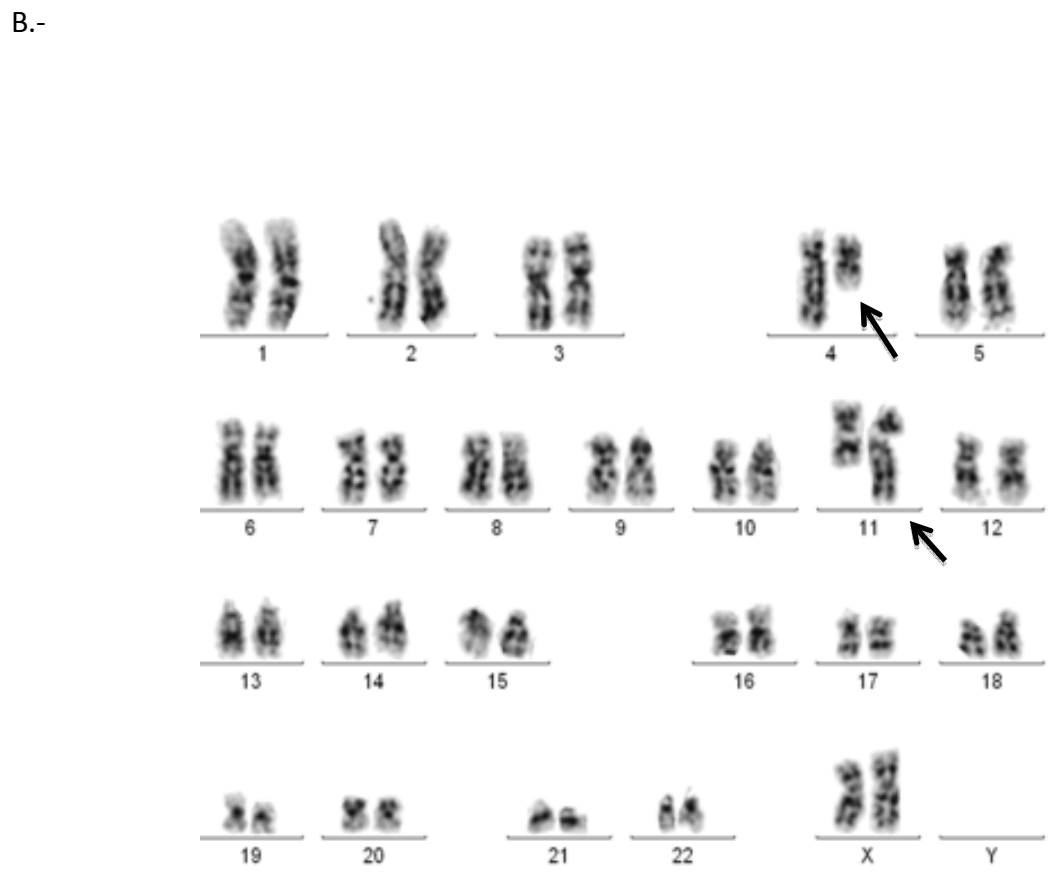
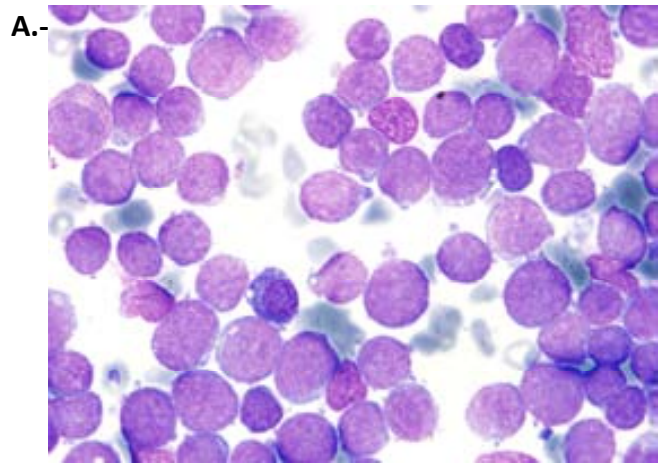
**Figura 39. Cariotip complex amb patró de bandes G d'un pacient diagnosticat de LLA amb t(9;22): 46,XY,der(9)del(9)(p22)t(9;22)(q34;q11.2),-20,der(22)t(9;22)(q34;q11.2),+mar.**



**Figura 40. Cariotip amb patró de bandes G de medul·la òssia d'un pacient diagnosticat de LLA amb t(1;19): 46,XX,+8,-12,+19,der(19)t(1;19)(q23;p13.3),der(19)t(1;19)(q23;p13.3),-20.**



**Figura 41. Iconografia d'un pacient diagnosticat de LLA amb t(4;11):** A.- frotis de medul·la òssia, s'observa infiltració per blastos de mida intermitja i petita, nuclis amb cromatina madura i citoplasma basòfil, alguns d'ells amb vacuoles (Tinció May-Grünwald – Giemsa, x100). B.- cariotip amb patró de bandes G, 46,XX,t(4;11)(q21;q23).





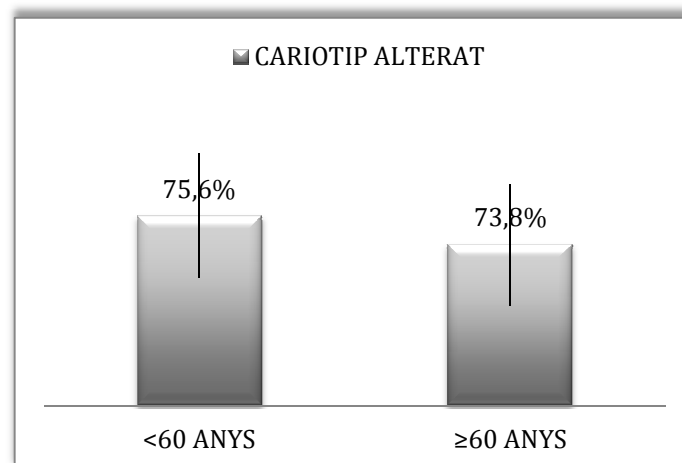
Taula 31. Descripció del nombre i percentatge de casos segons el cariotip.

	Casos	Percentatge
Normal	45/182	(24,7%)
Alterat	137/182	(75,3%)
<b>Nº Anomalies per Cas</b>		
Casos alterats		
no analitzables	16/137	(11,7%)
1 anomalia	41/137	(29,9%)
2 anomalies	23/137	(16,8%)
3 anomalies	13/137	(9,5%)
4 anomalies	5/137	(3,6%)
>4 anomalies	39/137	(28,5%)
<b>Una Anomalia Cromosòmica</b>		
t(9;22)	15/41	(36,6%)
t(1;19)	3/41	(7,3%)
t(4;11)	4/41	(9,6%)
<b>Dues Anomalies Cromosòmiques</b>		
t(9;22)	11/23	(47,8%)
t(1;19)	1/23	(4,3%)
t(4;11)	2/23	(8,6%)
<b>Cariotip complex</b>		
t(9;22)	6/39	(15,4%)
t(1;19)	3/39	(7,7%)
<b>Alteracions Pronòstic</b>		
Estàndard	95/184	(51,6%)
Advers	40/184	(21,7%)
t(9;22)	49/184	(26,7%)

---

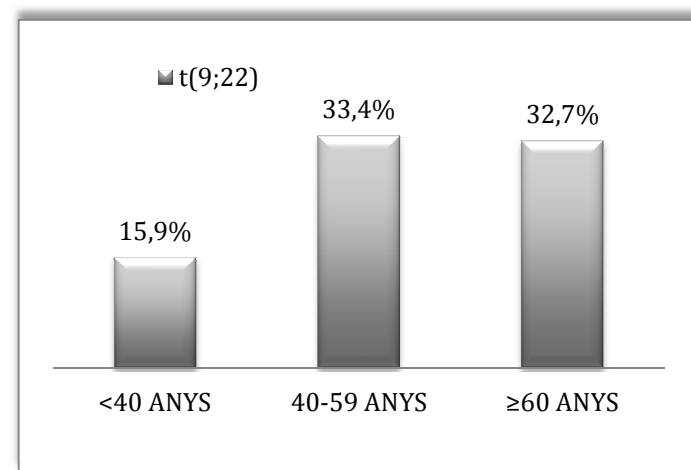
**Resultat citogenètic segons l'edat:** el percentatge de cariotips alterats en el grup de pacients menors de 60 anys i en el grup de pacients de 60 o més anys ha estat semblant (figura 42). No obstant, s'han trobat diferències estadísticament significatives quan s'ha comparat el nombre de casos segons l'anomalia cromosòmica més freqüent i el grup d'edat: la t(4;11)(q21;q23), t(1;19)(q23;p13.3) i la hiperdiploïdia solament s'ha observat en pacients < 60 anys, el cromosoma Ph' ha estat més freqüent en els pacients d'edat avançada (≥60 anys), el cariotip hipodiploide s'ha observat en el 3,7% dels pacients menors de 60 anys i en el 7,1% dels pacients de 60 o més anys (figura 43).

**Figura 42. Percentatge de casos amb cariotip alterat segons els dos grups d'edat definits (p=0,819).**

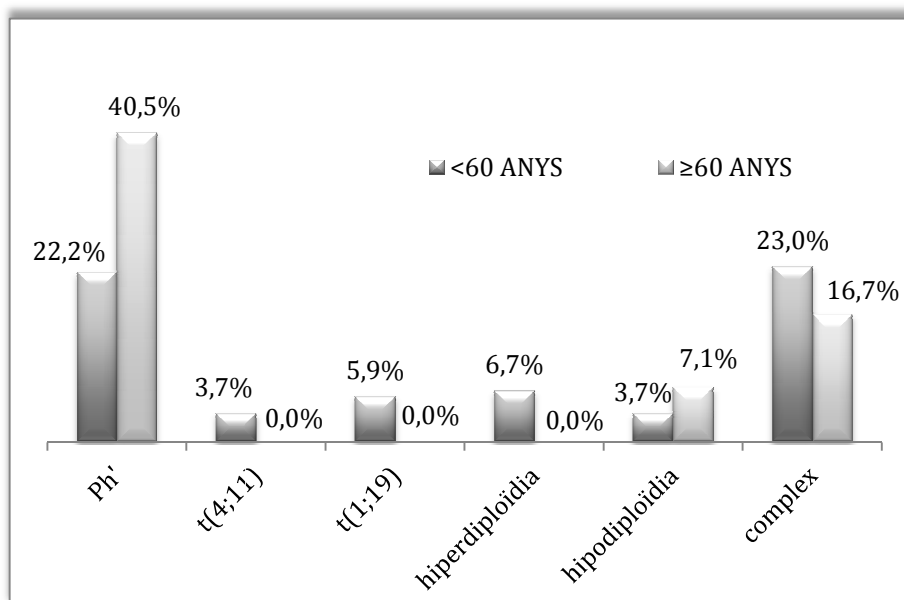


**Figura 43. Percentatge de les anomalies més freqüents segons el grup d'edat: A.- distribució del cromosoma Ph'; B.- distribució en percentatge de les anomalies més freqüents(p=0,020).**

**A.-**



**B.-**



**Resultat citogenètic segons el sexe:** el percentatge de casos amb cariotip alterat en els homes del 70,9% i en les dones és del 81,0% (p=0,116). El percentatge de casos amb presència de cromosoma Ph' en les dones ha estat del 26,6% i en els homes del

---

25,2%.

### *RESUM*

*El percentatge de casos amb cariotip alterat en la LLA és del 75,3%.*

*Les anomalies cromosòmiques més freqüents han estat la t(9;22), la hiperdiploïdia, la t(1;19), la hipodiploïdia i la t(4;11).*

*En la LLA presenta un 28,5% dels casos amb cariotip complex.*

*La t(1;19), la t(4;11), la hiperdiploïdia i la hipodiploïdia han sigut més freqüents en els pacients menors de 60 anys, i la t(9;22) és més freqüent en els pacients de 60 anys o més grans, de manera estadísticament significativa.*

**Anàlisi comparativa dels resultats citogenètics entre regions sanitàries:**

**Cariotip i tipus d'anomalia:** no existeixen diferències estadísticament significatives si es comparen el nombre de casos amb cariotip normal o alterat entre les diferents regions sanitàries (taula 32).

**Taula 32. Distribució del nombre de cariotips normals o alterats segons la regió sanitària.**

(p=0,710)	Normal	Alterat	Total
R1	29 (26,6%)	80 (73,4%)	109
R2	6 (22,2%)	21 (77,8%)	27
R3	7 (26,9%)	19 (73,1%)	26
R4	3 (15,0%)	17 (85,0%)	20
<b>TOTAL</b>	45 (24,7%)	137 (75,3%)	182

No s'ha observat diferències estadísticament significatives quan es valora el nombre de casos amb presència del cromosoma Ph' entre les diferents regions sanitàries. S'observa una tendència a tenir pocs casos cromosoma Ph' a la regió R3 (taula 33).

**Taula 33. Distribució del cromosoma Ph' per regió sanitària.**

(p=0,235)	Ph'+	Ph'-	TOTAL
R1	29 (36,3%)	51 (63,7%)	80
R2	7 (33,3%)	14 (66,7%)	21
R3	3 (15,8%)	16 (84,2%)	19
R4	8 (47,1%)	9 (52,9%)	17
<b>TOTAL</b>	47 (34,3%)	82 (65,7%)	137

**Cariotip complex:** no s'observen diferències estadísticament significatives si comparem el nombre de casos entre 1 i 4 anomalies i més de quatre entre les regions sanitàries. S'observa una tendència de més casos amb cariotip complex en les regions R3 i R4 (taula 34).

**Taula 34. Distribució del nombre d'anomalies segons la regió sanitària.**

(p=0,292)	1 - 4 Anomalies	>4 Anomalies	TOTAL
R1	54 (73,0%)	20 (27,0%)	74
R2	11 (55,0%)	9 (45,0%)	20
R3	7 (53,8%)	6 (46,2%)	13
R4	10 (71,4%)	4 (28,6%)	14
<b>TOTAL</b>	<b>82 (67,8%)</b>	<b>39 (32,2%)</b>	<b>121</b>

**Grups de risc citogenètic:** no s'observen diferències entre els grups de risc citogenètic definits per Moorman 2010 (Moorman, Chilton et al. 2010) entre les diferents regions sanitàries (taula 35).

**Taula 35. Distribució dels grups de risc citogenètics segons les regions sanitàries.**

(p=0,400)	Estàndard*	Advers**	t(9;22)	TOTAL
R1	58 (53,2%)	22 (20,2%)	29 (26,6%)	109
R2	12 (44,5%)	8 (29,6%)	7 (25,9%)	27
R3	16 (61,6%)	7 (26,9%)	3 (11,5%)	26
R4	9 (45%)	3 (15%)	8 (40%)	20
<b>TOTAL</b>	<b>95 (52,2%)</b>	<b>40 (22%)</b>	<b>47 (25,8%)</b>	<b>182</b>

\*Estàndard: cariotip normal i la resta d'anomalies.\*\*Advers: inclou els casos det(4;11)(q21;q23), hipodiploidia/triploidia i cariotip complex.

**RESUM**

*No hi ha diferències entre les quatre regions sanitàries respecte la incidència de casos amb cariotip alterat, presència del cromosoma Ph', el cariotip complex ni en els grups de risc citogenètic.*

## 5.6. Incidència i tipus d'alteracions cromosòmiques en la

### Leucèmia Limfàtica Crònica

**Subjectes d'estudi:** s'han estudiat 899 pacients (37,2% de la sèrie) diagnosticats de LLC, 551 han estat homes (61,3%) i 348 dones (38,7%), amb una mediana d'edat de 68 anys (extremes entre 27 i 95 anys). No hi ha hagut diferències estadísticament significatives respecte al sexe, sí per l'edat entre les quatre regions sanitàries. El 78% dels pacients eren majors de 60 anys. La mitjana de la taxa bruta d'incidència ha estat de 5,5 casos per 100.000 habitants a l'any, havent-hi diferències estadísticament significatives entre regions sanitàries (R2 amb una taxa inferior de 4 i R4 superior de 6,4) (taula 36).

**Taula 36. Característiques clíniques i d'incidència dels pacients diagnosticats de LLC entre els anys 1990 i 2009 en les quatre regions sanitàries definides:** R1 (Barcelonès Nord, Baix Maresme), R2 (Tarragonès, Terres de l'Ebre), R3 (Gironès, Pla de l'Estany, Selva Interior), R4 (L'Hospitalet i el Prat de Llobregat, Baix Llobregat, Garraf, Anoia, Alt Penedès).

Regió sanitària	Nombre de casos	Incidència (/100.000 habitants-any) (p<0,001)	Homes/ Dones (%) (p=0,710)	Edat Mediana (extremes) (p=0,009)
R1	284	5	61/39	67 (27-90)
R2	140	4	62/38	70 (35-87)
R3	99	6	57/43	64 (38-88)
R4	376	6,4	63/37	69 (33-95)
<b>TOTAL</b>	899	5,5	61/39	69 (27-95)

### Resultats citogenètics

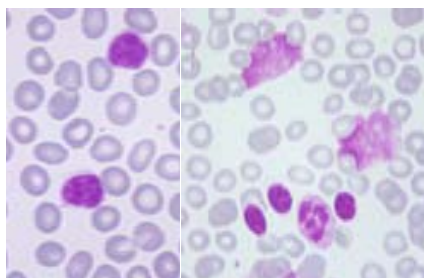
**Citogenètica convencional:** s'han analitzat 777 casos, dels quals en 105 casos no s'ha obtingut creixement (13,5%), 440 casos presentaven un cariotip normal (56,6%) i 232 casos un cariotip alterat (29,9%). Dels 232 casos amb cariotip alterat 136 presentaven una sola anomalia, 50 presentaven dues anomalies i 40 casos presentaven tres o més anomalies. Les alteracions més freqüents han estat la



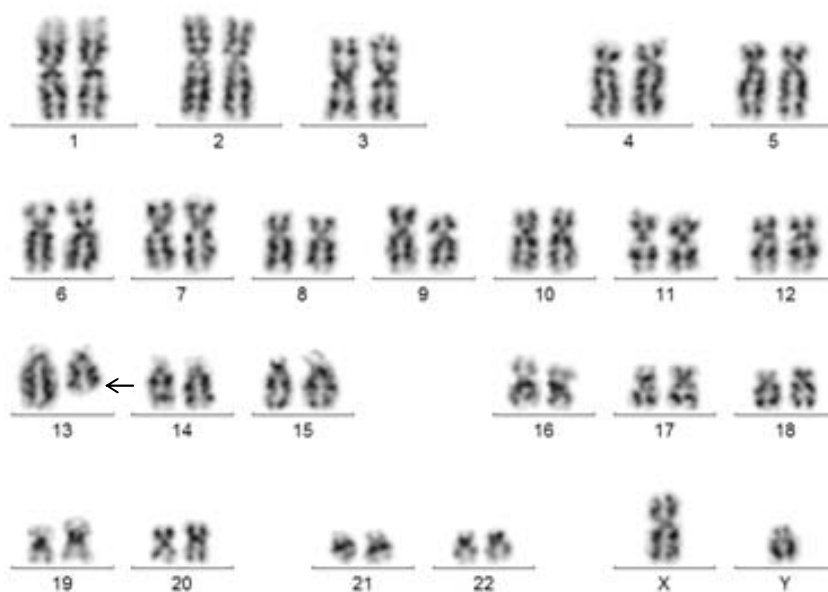
trisomia del cromosoma 12 (14,4%), delecíó del braç llarg del cromosoma 13 (7,1%), delecíó del braç llarg del cromosoma 11 (6,5%), delecíó del braç curt del cromosoma 17 (4,2%), delecíó del braç llarg del cromosoma 6 (2,4%) i delecíó del braç llarg del cromosoma 14 o translocacions 14q (3%) (figures 44, 45) (taula 37).

**Figura 44. Iconografia de pacients diagnosticats de LLC:** A.- frotis de sang perifèrica, s'observen limfòcits petits amb cromatina grumelée i ombres de Gumprecht (Tinció May-Grünwald- Giemsa, x100); B.- cariotip amb patró de bandes G, 46,XY,del(13)(q14q22); C.- cariotip amb patró de bandes G, 47,XY,+12; D.- cariotip amb patró de bandes G, 46,XY,del(11)(q13q23); E.- cariotip amb patró de bandes G, 45,XY,add(12)(q24), -15,der(17)t(15;17)(q11;p11)

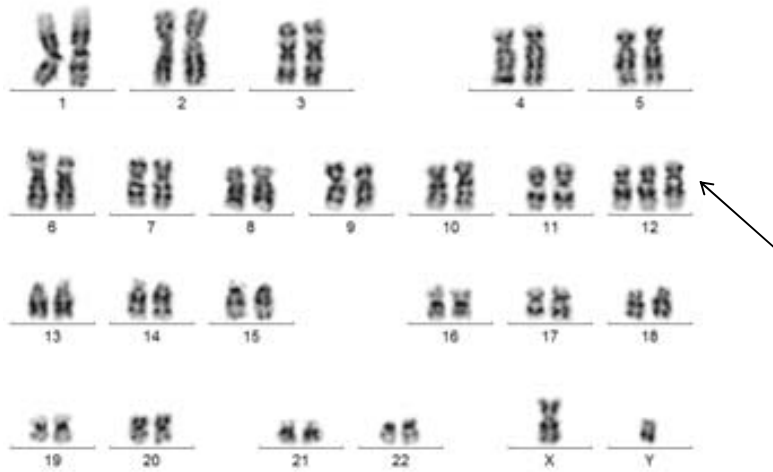
A.-



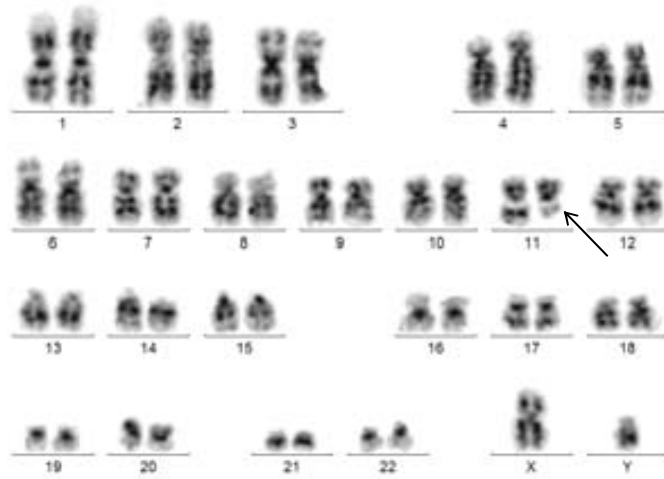
B.-



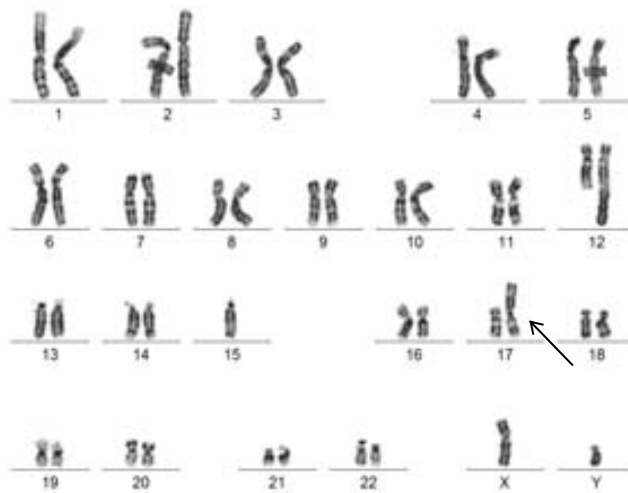
C.-



D.-



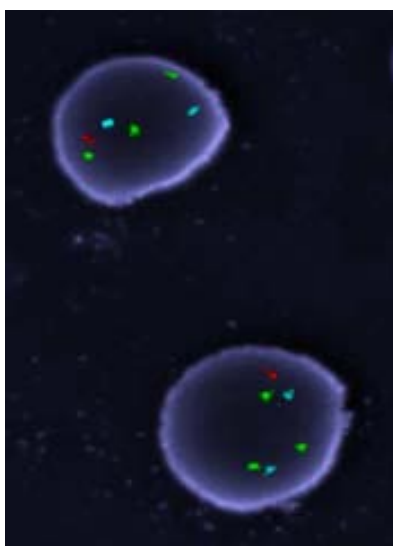
E.-



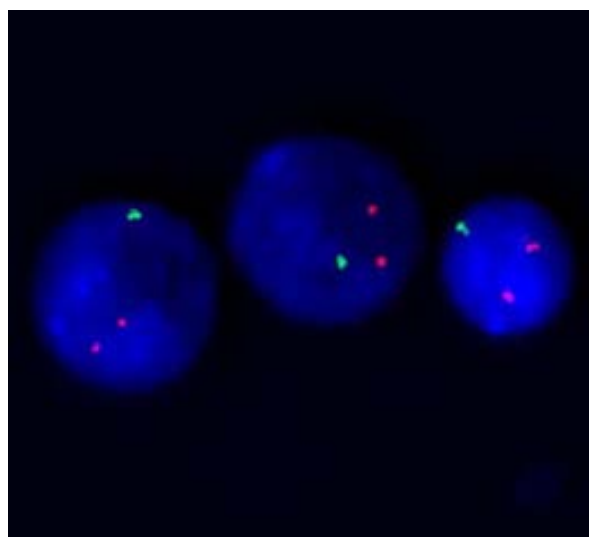
**FISH:** s'han analitzat 724 casos, dels quals 504 presentaven alteracions (69,6%). Dels 504 casos amb alteracions de FISH, 423 casos presentaven una sola alteració, 72 casos dues alteracions i 8 casos 3 alteracions (combinació de la deleció 13q, deleció *ATM* i deleció *TP53*). Respecte el tipus d'anomalia, en el 48,6% de les vegades s'ha observat deleció 13q14.3 de manera heterozigòtica, en el 10,2% deleció 13q14.3 de manera homozigòtica, el 16,4% dels casos presentaven trisomia del cromosoma 12, el 6,6% dels casos presentaven deleció del gen *ATM* i en el 5,8% s'observava deleció del gen *TP53* (figura 45)(taula 37).

**Figura 45. Iconografia de FISH de pacients diagnosticats de LLC: A.-deleció 13q14.3 (D13S319) i trisomia del cromosoma 12 en dos nuclis en interfase. Un sol senyal vermell ens mostra la pèrdua d'un dels al·lels del loci D13S319, dos senyals blaus ens mostren la presència del loci control per el cromosoma 13q34 (LAMP1) i tres senyals verds ens mostren la presència de tres cromosomes 12: nuc ish(D12Z3x3,D13S319x1,LAMP1x2); B.-deleció 11q22.3 (*ATM*) en tres nuclis en interfase. Un senyal verd ens demostra la pèrdua d'un dels al·lels del gen *ATM*, els dos senyals vermells confirmen la presència dels dos al·lels del gen *TP53*: nuc ish(ATMx1,TP53x2)**

**A.-**



**B.-**



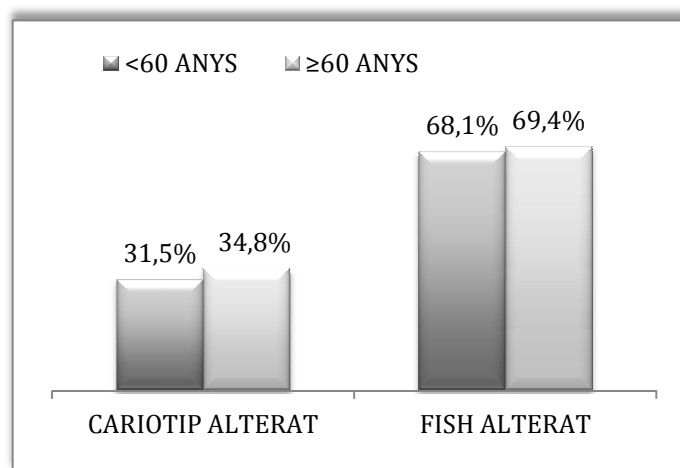
**Taula 37. Descripció del nombre i percentatge de casos segons els resultats del cariotip i**

de FISH.

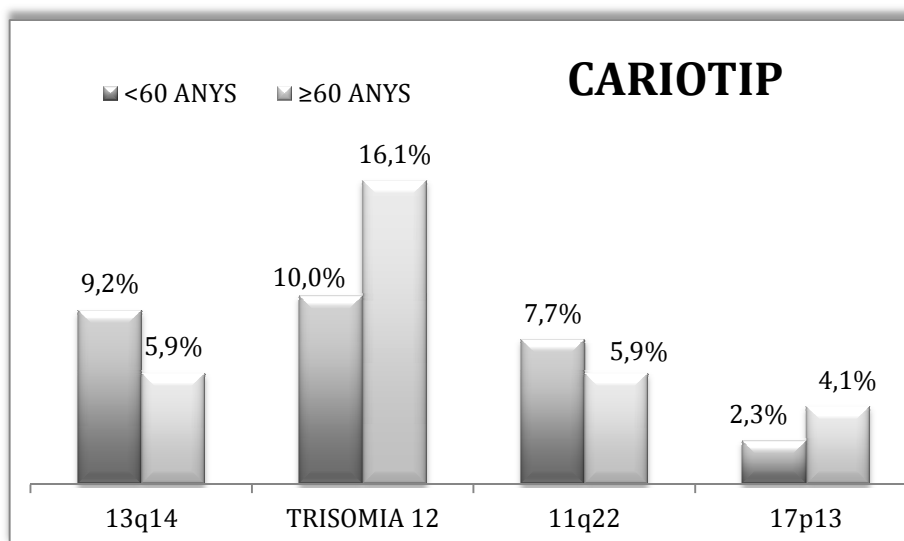
	<b>Cariotip</b>	<b>FISH</b>
	<b>Nº (%)</b>	<b>Nº (%)</b>
Normal	440 (65,5%)	220 (30,4%)
Alterat	232 (34,5%)	504 (69,6%)
<b>Nº Anomalies per Cas</b>		
Cariotip alterat		
No analitzable	6/232 (2,6%)	-
1 anomalia	136/232 (58,6%)	424/504 (84,1%)
2 anomalies	50/232 (21,6%)	72/504 (14,3%)
≥3 anomalies	40/232 (17,2%)	8/504 (1,6%)
<b>Una Anomalia</b>		
Trisomia 12	64/136 (47,1%)	88/424 (20,8%)
del(13q14.3)		
heterozigosi i/o homozigosi	21/136 (15,4%)	301/424 (71,2%)
del(11)(q22.3)	18/136 (13,2%)	14/424 (3,3%)
del/t(17p13.1)	6/136 (4,4%)	20/424 (4,7%)
del(6q)	5/136 (3,6%)	-
del (14q)	4/136 (2,9%)	-
t(14;18)	2/136 (1,5%)	-
<b>Dues Anomalies</b>		
del(13q) i trisomia 12	4/50 (8%)	23/72 (31,9%)
del(13q) i del(11q)	4/50 (8%)	24/72 (33,4%)
del(13q) i del(17p)	2/50 (4%)	19/72 (26,4%)
Trisomia 12 i del(11q) o del(17p)	1/50 (0,1%)	6/72 (0,8%)
<b>Alteracions amb Valor Pronòstic (FISH)</b>		<b>723</b>
Normal	-	220/724 (30,4%)
Favorable (del(13q))	-	301/724 (41,6%)
Intermedi (+12)	-	112/724 (15,5%)
Advers (11q, 17p)	-	90/724 (12,5%)

**Resultat citogenètic segons l'edat:** no s'han observat diferències estadísticament significatives respecte al percentatge de cariotip convencional i de FISH amb alteracions en el grup de pacients menors de 60 anys i en el grup de pacients de 60 anys o més grans (figura 46). Per tipus d'anomalia tampoc s'han observat diferències estadísticament significatives entre els dos grups d'edat, ni per cariotip convencional (figura 47), ni per FISH (figura 48).

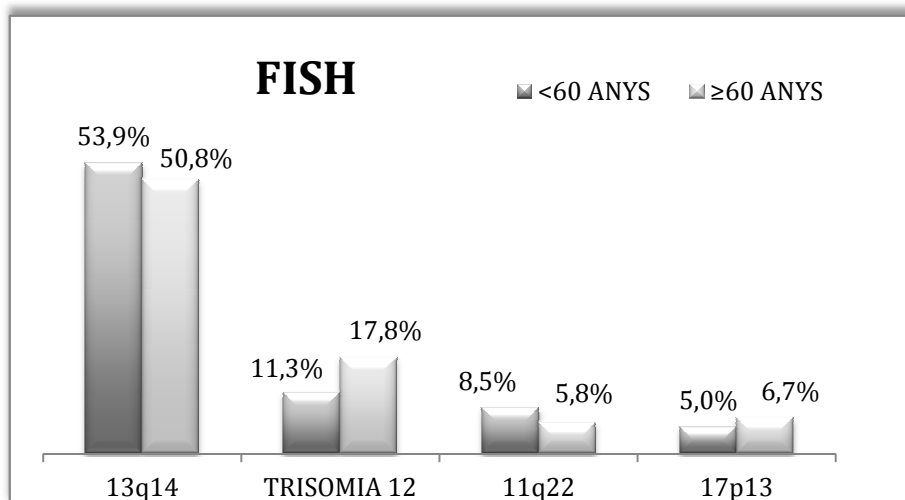
**Figura 46. Percentatge de casos amb cariotip convencional i de FISH alterats en els dos grups d'edats definits ( $p=0,487$  i  $p=0,768$  respectivament).**



**Figura 47. Percentatge de casos amb alteració per tipus d'anomalia analitzats mitjançant el cariotip convencional, en el grup de pacients menors de 60 anys i en els pacients de 60 o més anys ( $p=0,119$ ).**



**Figura 48. Percentatge de casos amb alteració per tipus d'anomalia analitzats mitjançant la tècnica de FISH en el grup de pacients menors de 60 anys i en els pacients de 60 o més anys (p=0,176).**



**Resultat citogenètic segons el sexe:** el percentatge de casos amb cariotip convencional alterat i de FISH alterat segons el sexe ha estat semblant (figura 49). A l'hora d'analitzar el tipus d'anomalia cromosòmica per citogenètica convencional i per FISH, s'han observat diferències significatives tant per cariotip convencional com per FISH. La trisomia 12 en les dues tècniques és més freqüent en les dones mentre que les delecions 11q22.3 són més freqüents en els homes (figura 50).

**Figura 49. Percentatge de casos amb cariotip alterat i de casos amb FISH alterat segons el sexe (p=0,193 i p=0,274, respectivament).**

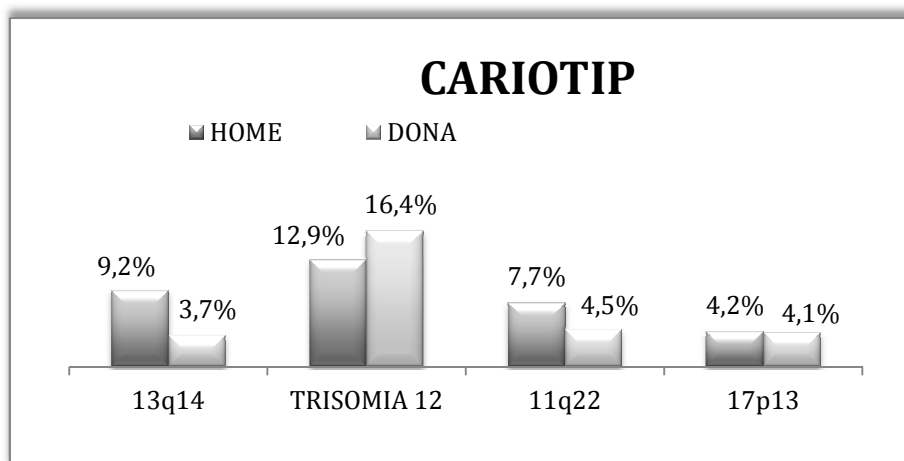
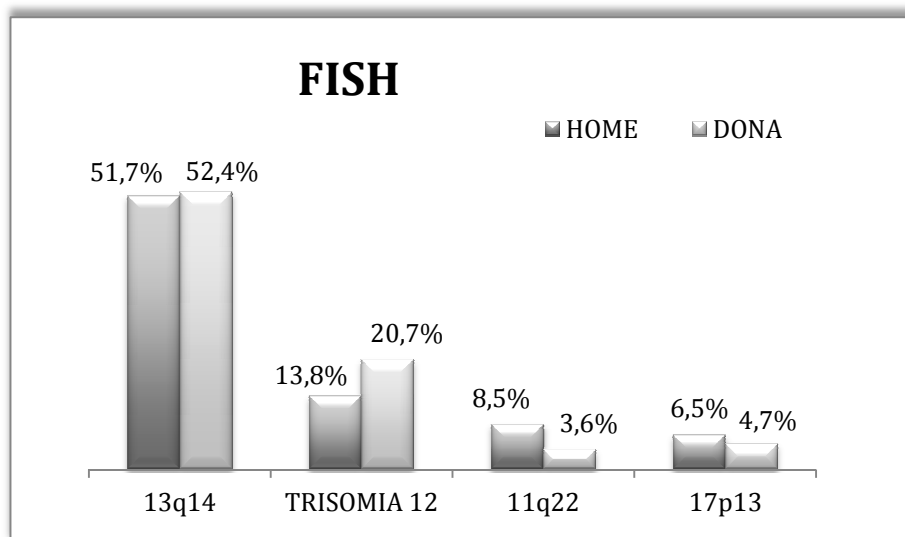
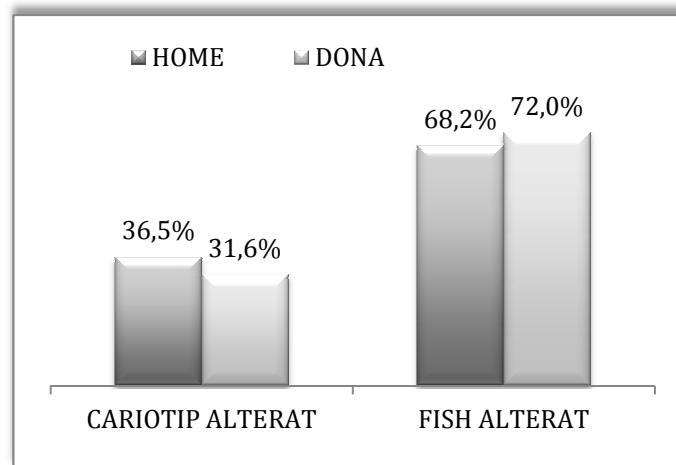


Figura 50. Tipus d'anomalia cromosòmica per citogenètica convencional i per FISH segons el sexe ( $p=0,020$  i  $p=0,008$  respectivament).



---

## *RESUM*

*El percentatge de casos LLCha estat del 34,5%.*

*El percentatge de casos amb FISH alterat en la LLC amb les sondes D13S319, CEP12, ATM i TP53 ha estat del 69,6%.*

*Les anomalies més freqüents en el cariotip ha sigut la trisomia 12, del(13q), del(11q) i t(v;17p).*

*En la LLC el cariotip complex ha representat un 17,2% dels casos.*

*La trisomia 12 ha estat més freqüent en les dones i la del(11q) en els homes, de manera estadísticament significativa.*



### **Anàlisi comparativa dels resultats citogenètics entre regions sanitàries**

**Cariotip i tipus d'anomalia:** no s'observen diferències estadísticament significatives respecte al nombre de casos amb cariotip alterat segons la regió sanitària (taula 38), tampoc amb la tècnica de FISH (taula 39).

**Taula 38. Distribució de casos amb cariotip normal i alterat segons les diferents regions sanitàries amb el cariotip convencional.**

<b>Cariotip (p=0,463)</b>	<b>Normal</b>	<b>Alterat</b>	<b>Total</b>
<b>R1</b>	153 (66,5%)	77 (33,5%)	230
<b>R2</b>	53 (61,6%)	33 (38,4%)	86
<b>R3</b>	55 (72,4%)	21 (27,6%)	76
<b>R4</b>	179 (63,9%)	101 (36,1%)	280
<b>TOTAL</b>	440 (65,5%)	232(34,5%)	672

**Taula 39. Distribució de casos amb FISH normal i alterat entre les diferents regions sanitàries.**

<b>FISH (p=0,735)</b>	<b>Normal</b>	<b>Alterat</b>	<b>Total</b>
<b>R1</b>	45(38,3%)	88 (66,2%)	133
<b>R2</b>	38 (29,7%)	90 (70,3%)	128
<b>R3</b>	26 (27,1%)	70 (72,9%)	96
<b>R4</b>	111 (30,2%)	256 (69,8%)	367
<b>TOTAL</b>	220 (30,4%)	504 (69,6%)	724

No s'han observat diferències estadísticament significatives segons el tipus d'anomalies cromosòmiques en el cariotip convencional (taula 40), ni amb FISH (taula 41) entre les quatre regions sanitàries definides.

**Taula 40. Distribució de casos amb segons el tipus d'anomalia i la regió sanitària amb el cariotip convencional.**

<b>Cariotip (p=0,595)</b>	<b>13q14.3</b>	<b>trisomia 12</b>	<b>11q22.3</b>	<b>17p13.1</b>	<b>TOTAL</b>
<b>R1</b>	9 (18,0%)	26 (52,0%)	7 (14,0%)	8 (16,0%)	50
<b>R2</b>	2(7,1%)	17 (60,7%)	6 (21,4%)	3 (10,7%)	28
<b>R3</b>	3 (15,0%)	11 (55,0%)	5 (25,0%)	1 (5,0%)	20
<b>R4</b>	17 (25,0%)	32 (47,1%)	13 (19,1%)	6 (8,8%)	68
<b>TOTAL</b>	31(18,7%)	86 (51,8%)	31 (18,7%)	18 (10,8)	166

**Taula 41. Distribució dels casos segons el tipus d'anomalia i la regió sanitària amb la tècnica de FISH.**

<b>FISH (p=0,985)</b>	<b>13q14.3</b>	<b>trisomia 12</b>	<b>11q22.3</b>	<b>17p13.1</b>	<b>TOTAL</b>
<b>R1</b>	57 (72,2%)	16 (20,3%)	2 (2,5%)	4 (5,1%)	79
<b>R2</b>	57 (67,1%)	21 (24,7%)	4 (4,7%)	3 (3,5%)	85
<b>R3</b>	42 (72,4%)	13 (22,4%)	1 (1,7%)	2 (3,4%)	58
<b>R4</b>	128(69,6%)	38 (20,7%)	7 (3,8)	11 (6,0%)	184
<b>TOTAL</b>	284 (70,0%)	88 (21,7%)	14 (3,4%)	20 (4,9%)	406

**Cariotip complex:** no s'observa diferències en la proporció de casos amb cariotip complex entre les regions sanitàries (taula 42). A l'analitzar el nombre d'anomalies mitjançant FISH en cada una de les regions sanitàries tampoc s'observen diferències estadísticament significatives (taula 43).

**Taula 42. Distribució del nombre de casos amb anomalies per citogenètica convencional segons les diferents regions sanitàries.**

<b>Cariotip (p=0,443)</b>	<b>1/2 Anomalies</b>	<b>≥3 Anomalies</b>	<b>TOTAL</b>
<b>R1</b>	62 (86,1%)	10 (13,9%)	72
<b>R2</b>	28 (84,8%)	5 (15,2%)	33
<b>R3</b>	15 (71,4%)	6 (28,6%)	21
<b>R4</b>	81 (81,0%)	19 (19,0%)	100
<b>TOTAL</b>	186 (82,3%)	40 (17,7%)	226

**Taula 43. Distribució del nombre de casos amb anomalies detectades per FISH segons les diferents regions sanitàries.**

<b>FISH (p=0,950)</b>	<b>1-2 Anomalies</b>	<b>3 Anomalies</b>	<b>TOTAL</b>
<b>R1</b>	87 (98,9%)	1 (1,1%)	88
<b>R2</b>	88 (97,8%)	2 (2,2%)	90
<b>R3</b>	69 (98,6%)	1 (1,4%)	70
<b>R4</b>	251 (98,4%)	4 (1,6%)	255
<b>TOTAL</b>	495 (98,4%)	80 (1,6%)	503

**Grups de risc citogenètic mitjançant la tècnica de FISH:** s'han agrupat les anomalies del FISH segons el seu pronòstic: delecions 13q en grup favorable, trisomies 12 en grup intermedi, delecions dels gens *ATM* i *TP53* en grup advers. No s'han observat diferències estadísticament significatives (taula 44).

Taula 44. Distribució del nombre de casos segons el grup de risc citogenètic segons la regió sanitària (FISH).

(p=0,472)	Favorable	Intermedi	Advers	TOTAL
R1	57 (64,8%)	17 (19,3%)	14 (15,9%)	88
R2	50 (55,6%)	23 (25,6%)	17 (18,9%)	90
R3	42 (60%)	20 (28,6%)	8 (11,4%)	70
R4	152 (59,6%)	52 (20,4%)	51 (20%)	255
<b>TOTAL</b>	301 (59,8%)	112 (22,3%)	90 (17,9%)	503

*Resum*

*No hi ha diferències entre les quatre regions sanitàries respecte la incidència de casos amb cariotip/FISH alterat, el tipus d'anomalia, el cariotip/FISH complex ni pel grup de risc citogenètic.*

#### 5.4. Incidència i tipus d'alteracions cromosòmiques en la Síndromes Mielodisplàstiques

**Subjectes d'estudi:** entre els anys 1990 i 2009 s'han estudiat 506 pacients (20,9% de la sèrie) diagnosticats de SMD, 299 homes (59,1%) i 207 dones (40,9%), amb una mediana d'edat de 72 anys (extrems entre 22 i 96 anys). Entre regions no hi ha hagut diferències estadísticament significatives respecte el sexe, però sí per l'edat. En la R2 s'observa una mediana de 75 anys superior a la resta de regions, que oscil·len entre els 69 i els 71 anys. La mitjana de la taxa bruta d'incidència ha estat de 3,5 casos per 100.000 habitants a l'any, havent-hi diferències estadísticament significatives entre regions sanitàries (taula 11).

**Taula 11. Característiques clíniques i d'incidència dels pacients diagnosticats de SMD entre els anys 1990 i 2009 en les quatre regions sanitàries definides:** R1 (Barcelonès Nord, Baix Maresme), R2 (Tarragonès, Terres de l'Ebre), R3 (Gironès, Pla de l'Estany, Selva Interior), R4 (L'Hospitalet i el Prat de Llobregat, Baix Llobregat, Garraf, Anoia, Alt Penedès).

Regió Sanitària	Nombre de casos	Incidència (/100.000 habitants-any) (p<0,001)	Homes/ Dones (%) (p=0,775)	Edat Mediana (extrems) (p=0,031)
R1	239	4	57/43	71 (22-96)
R2	125	5	60/40	75 (27-88)
R3	31	2	65/35	71 (36-89)
R4	111	2,9	61/39	69 (24-86)
<b>TOTAL</b>	506	3,5	59/41	72 (22-96)

Segons la classificació de l'OMS 2008 el subtipus menys freqüent ha estat la SMD amb 5q- aïllada i la més freqüent ha estat l'AREB (5-19% de blastos). En un 16,8% dels casos no es tenia un diagnòstic citològic (taula 12).

**Taula 12. Descripció del nombre i percentatge de casos segons la classificació de l'OMS 2008.**

	Nombre de Casos	Percentatge
<b>Classificació OMS 2008</b>		
SMD i 5q-*	41	(8,1%)
AR	77	(15,2%)
CRDM	78	(15,4%)
ARS	90	(17,8%)
AREB	135	(26,7%)
SENSE TIPIFICAR	85	(16,8%)

\*cariotips amb la deleció 5q aïllada o 5q- amb la pèrdua del cromosoma Y, amb una sola citopènia i menys d'un 5% blastos a la MO.

### **Resultats citogenètics**

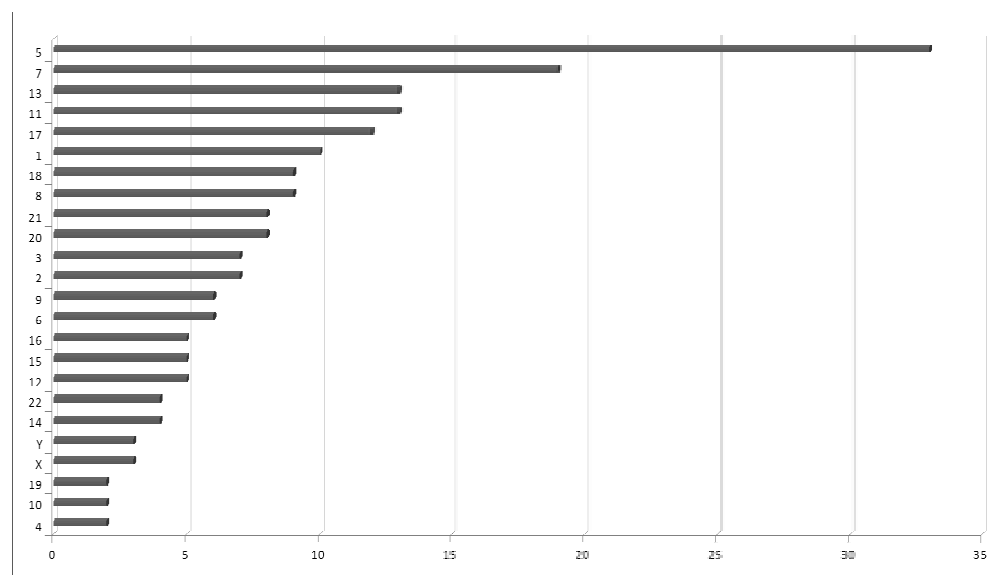
S'han estudiat 506 mostres, en 37 no s'ha obtingut creixement (7,3%), en 280 el cariotip ha estat normal (55,3%) i en 189 el cariotip ha estat alterat (37,4%). Dels 189 cariotips alterats, 119 presentaven una sola anomalia (les més freqüents han estat: 5q-, -Y, +8, -7, 20q-, 11q-), 24 presentaven dues anomalies (les més freqüents han estat: 5q- més altres anomalies, +8 més altres anomalies, -7/7q- més altres anomalies), 46 casos presentaven tres o més anomalies (cariotip complex). Els cromosomes que s'han vist alterats amb més freqüència entre els cariotips complexos han estat: cromosoma 5 (n=33), cromosoma 7 (n=19), cromosoma 11 (n=13), cromosoma 13 (n=13), cromosoma 17 (n=12) i cromosoma 1 (n=10). La resta de cromosomes s'han observat en menys de 10 casos (taula 13) (figura 22).

Taula 13. Descripció del nombre i percentatge de casos segons els resultats del cariotip.

	Nombre de Casos	Percentatge
<b>Cariotip</b>		
Normal	280/469	(59,7%)
Alterat	189/469	(40,3%)
<b>Nº Anomalies per cas</b>		
1 anomalia	119/189	(62,9%)
2 anomalies	24/189	(12,7%)
≥3 anomalies	46/189	(24,4%)
<b>Anomalies més freqüents</b>		
5q-	49/189	25,9%
+8	23/189	12,2%
-7/7q-	14/189	7,4%
<b>Una Anomalia</b>		
5q-	40/119	(33,6%)
+8	19/119	(16%)
-Y	13/119	(10,9%)
20q-	11/119	(9,2%)
-7	9/119	(7,6%)
7q-	1/119	(0,8%)
11q-	9/119	(7,6%)
+11	2/119	(1,7%)
i(17)(q10)	2/119	(1,7%)
+19	1/119	(0,8%)
+21	1/119	(0,8%)
+9	1/119	(0,8%)
9q-	1/119	(0,8%)

der(3q)	1/119	(0,8%)
t(6;9)	1/119	(0,8%)
Altres	7/119	(5,9%)
<b>Dues Anomalies</b>		
5q- més un altra alteració	9/24	(37,7%)
monosomia 7/7q- més un altra alteració	4/24	(16,6%)
trisomia 8 més un altra alteració	4/24	(16,6%)
Altres	7/24	(29,1%)

**Figura 22.** Freqüència en que s'observen els cromosomes alterats en els casos amb cariotip complex.



**Resultats citogenètics segons la classificació de l'OMS 2008 i el grup de risc citogenètic:** segons els subtipus de l'OMS 2008, l'ARS és la que presenta més casos amb cariotip normal i l'AREB és la que presenta més casos amb cariotips alterats si exclouem els casos de Sd 5q-, sense que hi hagi diferències estadísticament significatives (taula 14, A). Igualment si analitzen el nombre d'anomalies cromosòmiques per subtipus, l'ARS és l'entitat amb menys casos amb cariotip complex i l'AREB és l'entitat que presenta més casos amb cariotip complexo però sense arribar a ser estadísticament significativa (taula 14, B).



**Taula 14. Segons la classificació de l'OMS 2008: (A)** distribució del nombre de casos amb cariotip normal o alterat alterat, **(B)** distribució del nombre de casos segons el nombre d'anomalies.

<b>A</b> <b>(p=0,052)</b>	<b>Cariotip</b> <b>Normal</b>	<b>Cariotip</b> <b>Alterat</b>	<b>TOTAL</b>
AR	47 (67,1%)	23 (32,9%)	70
CRDM	49 (68,1%)	23 (31,9%)	72
ARS	62 (76,5%)	19 (23,5%)	81
AREB	69 (56,1%)	54 (43,9%)	123
SENSE TIPIFICAR	53 (64,6%)	29 (35,4%)	82
<b>TOTAL</b>	<b>280 (65,4%)</b>	<b>148 (34,6%)</b>	<b>428</b>

<b>B</b> <b>(p=0,580)</b>	<b>1-2</b> <b>Anomalies</b>	<b>≥ 3</b> <b>Anomalies</b>	<b>TOTAL</b>
AR	17 (73,9%)	6 (26,1%)	23
CRDM	16 (69,6%)	7 (30,4%)	23
ARS	15 (78,9%)	4 (21,1%)	19
AREB	33 (61,2%)	21 (38,8%)	54
SENSE CLASSIFICAR	21 (72,4%)	8 (27,6%)	29
<b>TOTAL</b>	<b>102 (68,9%)</b>	<b>46 (31,1%)</b>	<b>148</b>

Respecte el grup de risc citogenètic definit per IPSS-R 2012 (Greenberg, Tuechler et al. 2012, Schanz, Tuchler et al. 2012) els casos es distribueixen de la següent manera (taula 15):

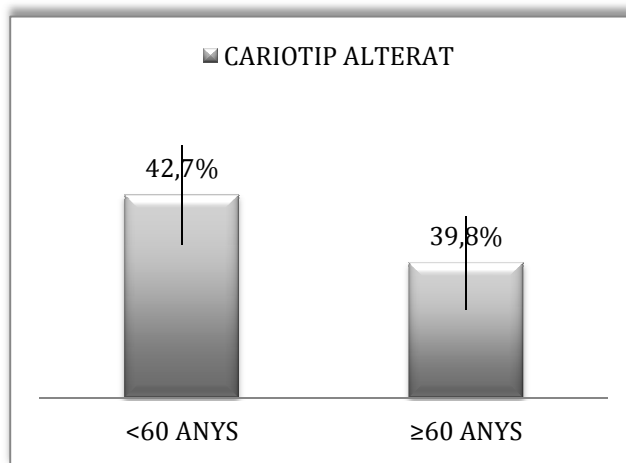
**Taula 15. Nombre de casos segons els grups de risc citogenètic.**

<b>IPSS-R (2012)</b>	<b>Nombre de Casos</b>
Molt Favorable	23 (4,9%)
Favorable	340 (72,5%)
Intermedi	46 (9,8%)
Advers	23 (4,9%)
Molt Advers	37 (7,9%)

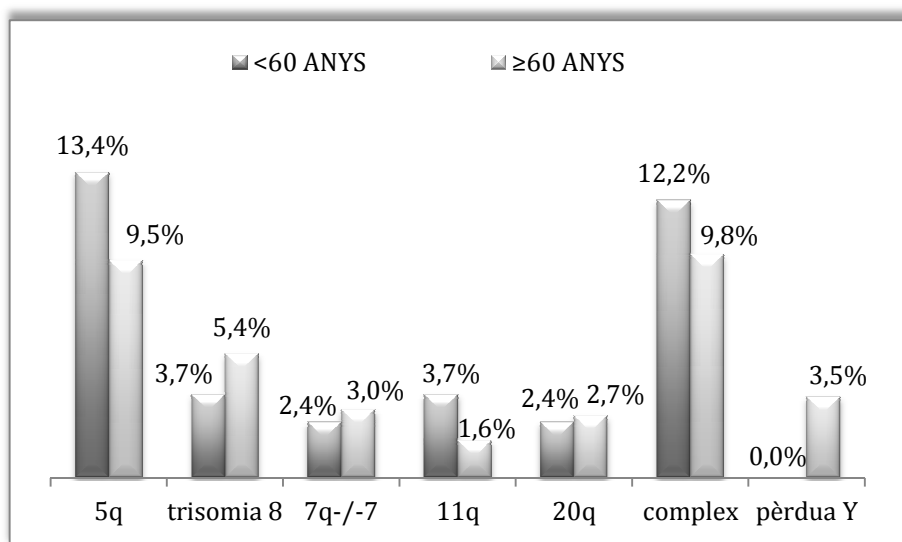
#### **Resultat citogenètic segons l'edat**

No s'han observat diferències estadísticament significatives entre els dos grups d'edat analitzats (<60 anys vs ≥ 60 anys) en aquells pacients que presentaven el cariotip alterat (figura 23). Tampoc s'han observat diferències significatives quan s'han analitzat cada una de les anomalies observades amb més freqüència entre els dos grups d'edat, tot i això la pèrdua del cromosoma Y només s'observa en aquells pacients de 60 o més anys (figura 24).

**Figura 23. Percentatge de casos amb cariotip alterat segons els dos grups d'edat definits (p=0,628).**



**Figura 24.** Percentatge de casos amb cada una de les anomalies més freqüents segons el grup d'edat ( $p=0,413$ ).



### Resultat citogenètic segons el sexe

El percentatge de casos amb cariotip alterat és molt semblant en els dos sexes, 40,4% per els homes i 40,2% per les dones ( $p=0,973$ ). Ara bé, en l'anàlisi segons el tipus d'anomalia s'observa que les delecions del cromosoma 5q són més freqüents en les dones (19,6% vs 4%) i la trisomia del cromosoma 8 és més freqüent en els homes (7,3% vs 1,5%) de manera estadísticament significativa ( $p<0,001$ ). En la resta d'anomalies s'observa una freqüència semblant (figura 25, 26).

Figura 25. Percentatge de casos amb cariotip alterat segons el sexe ( $p < 0,001$ ).

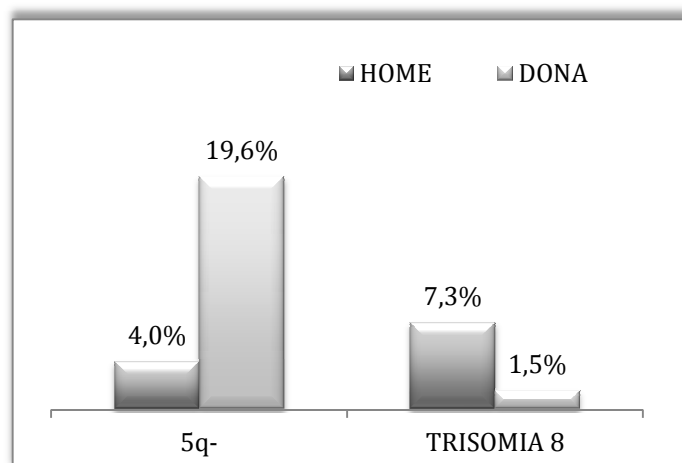
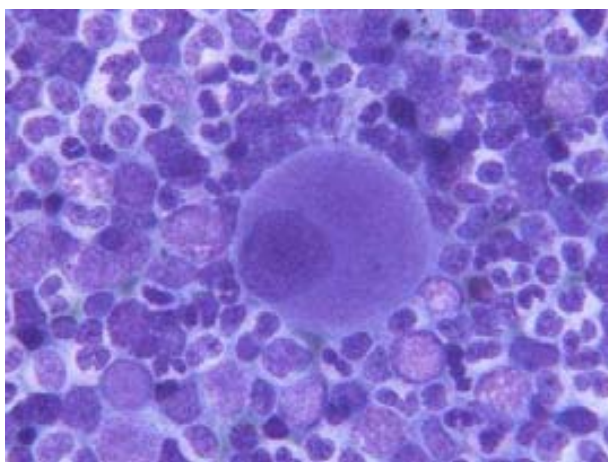
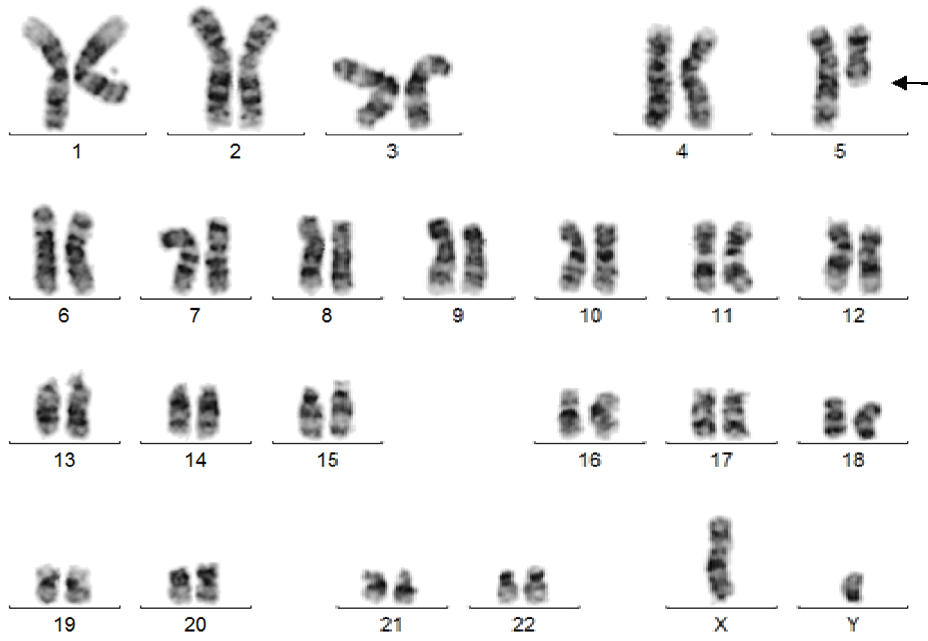


Figura 26. Iconografia d'una pacient diagnosticada de SMD amb deleció 5q aïllada: **A.-** frotis de medul·la òssia, s'observa un megacariòcit de mida petita i nucli unilobulat (Tinció May-Grünwald - Giemsa, x100). **B.-** cariotip en bandes G i deleció intersticial del braç llarg (q12q33) del cromosoma 5: 46,XY,del(5)(q12q33).

**A.-**



**B.-**



---

## *RESUM*

*El percentatge de casos amb cariotip alterat en les SMD és del 40,3%.*

*Les anomalies cromosòmiques més freqüents són la del(5q), trisomia 8, monosomia/del(7q) i pèrdua del cromosoma Y.*

*En les SMD un 24,4% dels casos presenten cariotip complex.*

*La del(5q) és més freqüent en les dones i la trisomia 8 en els homes, de manera estadísticament significativa.*

### **Anàlisi comparativa dels subtipus segons la classificació de l'OMS 2008 entre regions sanitàries**

S'han observat diferències estadísticament significatives en la distribució dels subtipus de SMD segons la classificació de l'OMS 2008 i la regió sanitària, en tots els subtipus a excepció de la Sd 5q- (taula 16).

**Taula 16. Distribució de les SMD segons la classificació de l'OMS 2008 i regió sanitària.**

<b>(p&lt;0,001)</b>	<b>SMD 5q-</b>	<b>AR</b>	<b>CRDM</b>	<b>ARS</b>	<b>AREB</b>	<b>SENSE TIPIFICAR</b>	<b>TOTAL</b>
<b>R1</b>	19 (7,9%)	42 (17,6%)	20 (8,4%)	56 (23,4%)	62 (25,9%)	40 (16,7%)	239
<b>R2</b>	11 (8,8%)	29 (23,2%)	15 (12,0%)	25 (20,0%)	22 (17,6%)	23 (18,4%)	125
<b>R3</b>	3 (9,7%)	42 (6,5%)	9 (29,0%)	5 (16,1%)	10 (32,3%)	2 (6,5%)	31
<b>R4</b>	10 (9,0%)	4 (3,6%)	32 (28,8%)	4 (3,6%)	41 (36,9%)	20 (18,0%)	111
<b>TOTAL</b>	43 (8,5%)	77 (15,2%)	76 (15,0%)	90 (17,8%)	135 (26,7%)	85 (16,8%)	506

### **Anàlisi comparativa dels resultats citogenètics entre regions sanitàries:**

#### **Cariotip i tipus d'anomalia**

Existeixen diferències estadísticament significatives si comparem el cariotip entre les diferents regions sanitàries. En els pacients diagnosticats en la regió R1 s'observa un 47,7% de casos amb cariotip alterat, en les altres regions és entre un 30% i 39,4%, essent les regions R2 i R3 les que mostren més percentatge de casos amb cariotip normal (taula 17). Però quan s'analitzen els tres tipus d'anomalia més freqüents, 5q-, trisomia 8 i pèrdua del cromosoma Y no s'observen diferències significatives (taula 18).

**Taula 17. Distribució del nombre de casos amb cariotip normal i alterat segons la regió sanitària.**

(p=0,010)	Cariotip Normal	Cariotip Alterat	Total
R1	113 (52,3%)	103 (47,7%)	216
R2	83 (69,7%)	36(30,3%)	119
R3	21 (70%)	9 (30%)	30
R4	63 (60,6%)	41 (39,4%)	104
<b>TOTAL</b>	280 (59,7%)	189 (40,3%)	469

**Taula 18. Distribució de les anomalies més freqüents segons la regió sanitària.**

(p=0,693)	deleció 5q	pèrdua cromosoma Y	trisomia 8	TOTAL
R1	18 (52,9%)	6 (17,6)	10 (29,4%)	34
R2	10 (62,5%)	1 (6,3%)	5 (31,3%)	16
R3	2 (66,7%)	1 (33,3%)	0 (0%)	3
R4	10 (52,6%)	5 (26,3%)	4(21,1%)	19
<b>TOTAL</b>	40 (55,6%)	13 (18,1%)	19 (26,4%)	72

**Cariotip complex:** s'observen diferències estadísticament significatives en el nombre de casos amb anomalies cromosòmiques que presenta cada una de les regions. El casos diagnosticats a la R3 són els que presenten un nombre superior de cariotip complex (44,4%) respecte al percentatge inferior de la R4 (9,8%) (taula 19).



**Taula 19. Distribució del nombre d'anomalies en els cariotips alterats segons regions sanitàries.**

(p=0,029)	1-2 Anomalies	≥3 Anomalies	TOTAL
R1	72 (69,9%)	31 (30,1%)	103
R2	29 (80,6%)	7 (19,4%)	36
R3	5 (55,6%)	4 (44,4%)	9
R4	37 (90,2%)	4 (9,8%)	441
<b>TOTAL</b>	143 (75,7%)	46 (24,3%)	189

**Grups de risc citogenètic:** no s'observen diferències estadísticament significatives quan es classifiquen els resultats del cariotip per grup de risc citogenètic (IPSS-R, 2012) i regió sanitària (taula 20).

**Taula 20. Distribució de grups de risc segons IPSS-R 2012 i la regió sanitària.**

(p=0,115)	Molt Favorable	Favorable	Intermedi	Advers	Molt Advers	TOTAL
R1	13 (6%)	143 (66,2%)	23 (10,6%)	13 (6%)	24 (11,1%)	216
R2	2 (1,7%)	95 (79,8%)	10 (8,4%)	6 (5%)	6 (5%)	119
R3	2 (6,7%)	23 (76,7%)	1 (3,3%)	1 (3,3%)	3 (10%)	30
R4	6 (5,8%)	79 (76%)	12 (11,5%)	3 (2,9%)	4 (3,8%)	104
<b>TOTAL</b>	23 (4,9%)	340 (72,5%)	46 (9,8%)	23 (4,9%)	37 (7,9%)	469

---

## *RESUM*

*En la R1 ICO-HGTIP (Barcelonès Nord, Baix Maresme) s'observa una major freqüència de casos amb el cariotip alterat, de manera estadísticament significativa.*

*La distribució de les anomalies més freqüents entre regions és semblant.*

*En la R3 ICO-HJT (Gironès, Pla de l'Estany, Selva Interior) s'observa una major freqüència de casos amb cariotip complex, de manera estadísticament significativa.*

## COMPARATIVA ENTRE MALALTIES

Taula 45. Població d'estudi per hemopatia i regió sanitària: R1, (ICO-HGTIP, Barcelonès Nord, Baix Maresme), R2 (HVC i HJXXIII, Tarragonès, Terres de l'Ebre), R3 (ICO-HJT Gironès, Pla de l'Estany i Selva Interior) i R4 (ICO-HDiR, L'Hospitalet i el Prat del Llobregat, Baix Llobregat, Garraf, Anòia, Alt penedès).

Regió sanitària	Nombre de casos	Incidència Anual (/100.000-any)	Sexe (%) Homes/Dones	Edat Mediana (extrems)
<b>LMC</b>		(p<0,001)	(p=0,365)	(p=0,708)
R1	96	1	65/35	52 (15-83)
R2	42	1	55/45	58 (26-85)
R3	38	2	50/50	51,5 (14-79)
R4	39	0,7	64/36	53 (25-77)
<b>TOTAL</b>	<b>215</b>	<b>1,2</b>	<b>60/40</b>	<b>53 (15-85)</b>
<b>SMD</b>		(p<0,001)	(p=0,775)	(p=0,031)
R1	239	4	57/43	71 (22-96)
R2	125	5	60/40	75 (27-88)
R3	31	2	65/35	71 (36-89)
R4	111	2,9	61/39	69 (24-86)
<b>TOTAL</b>	<b>506</b>	<b>3,5</b>	<b>59/41</b>	<b>72 (22-96)</b>
<b>LMA</b>		(p<0,001)	(p=0,365)	(p=0,025)
R1	393	5	56/44	62 (15-96)
R2	164	4,5	56/44	65 (15-89)
R3	87	5	56/44	58 (18-78)
R4	169	2,9	63/37	64 (19-91)
<b>TOTAL</b>	<b>813</b>	<b>4,4</b>	<b>57/43</b>	<b>62 (15-96)</b>
Regió sanitària	Nombre de casos	Incidència Anual (/100.000-any)	Sexe (%) Homes/Dones	Edat Mediana (extrems)

LLA		(p<0,001)	(p=0,898)	(p=0,161)
R1	127	2	55/45	39 (15-87)
R2	33	1	54/46	39 (15-81)
R3	34	2	50/50	31 (15-74)
R4	25	0,4	60/40	45 (19-74)
<b>TOTAL</b>	<b>219</b>	<b>1,4</b>	<b>55/45</b>	<b>39 (15-87)</b>
LLC		(p<0,001)	(p=0,710)	(p=0,009)
R1	284	5	61/39	67 (27-90)
R2	140	4	62/38	70 (37-87)
R3	99	6	57/43	63 (38-88)
R4	376	6,4	63/37	69 (33-95)
<b>TOTAL</b>	<b>667</b>	<b>5,5</b>	<b>61/39</b>	<b>69 (27-95)</b>

**Figura 51. Distribució dels casos diagnosticats de leucèmies i SMD, en percentatge, de cinc centres sanitaris corresponents a quatre regions sanitàries diferenciades geogràficament: ICO-HGTIP (R1, Barcelonès Nord, Baix Maresme) , HVC i HJXXIII (R2, Tarragonès, Terres de l'Ebre), ICO-HJT (R3, Gironès, Pla de l'Estanty i Selva Interior) i ICO-HDiR (R4, Hospitalet, Baix Llobregat, Garraf, Anòia, Alt penedès).**

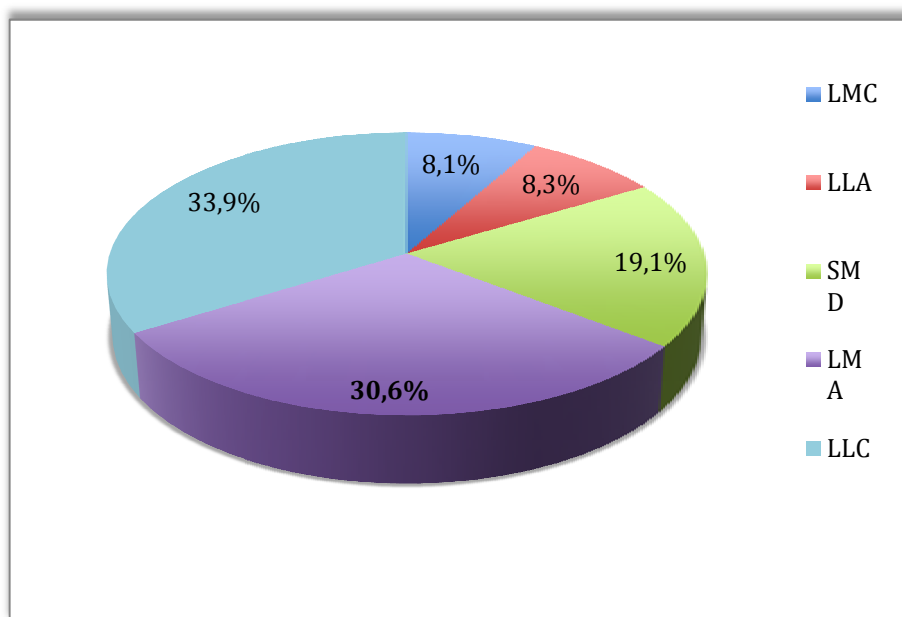


Figura 52. Representació gràfica del nombre de casos per grup d'edat de les cinc hemopaties estudiades: LMC, SMD, LMA, LLA i LLC.

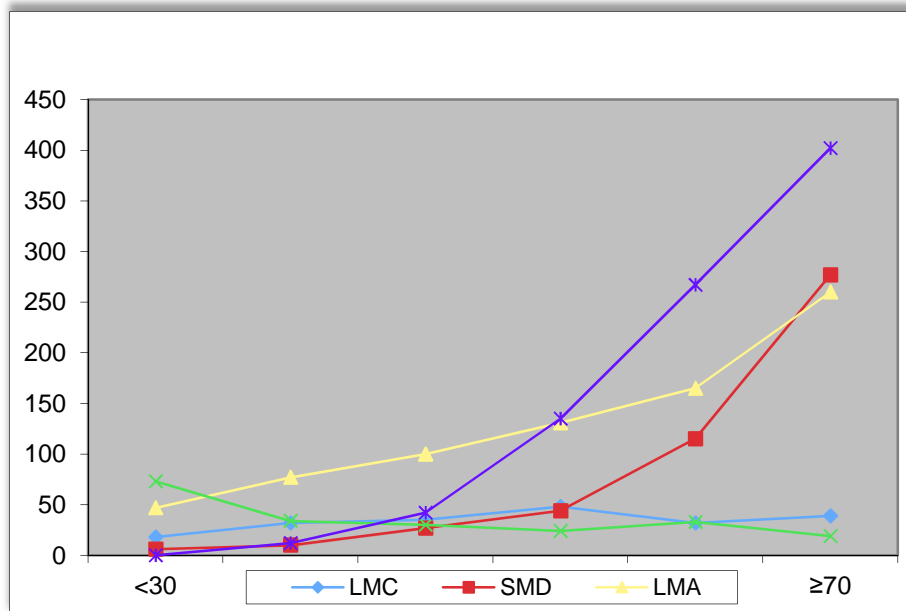
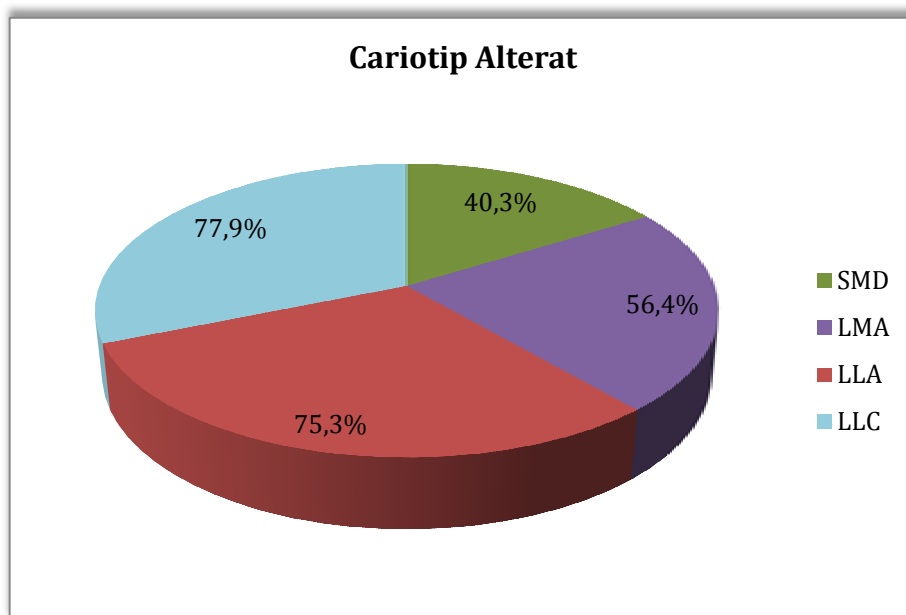
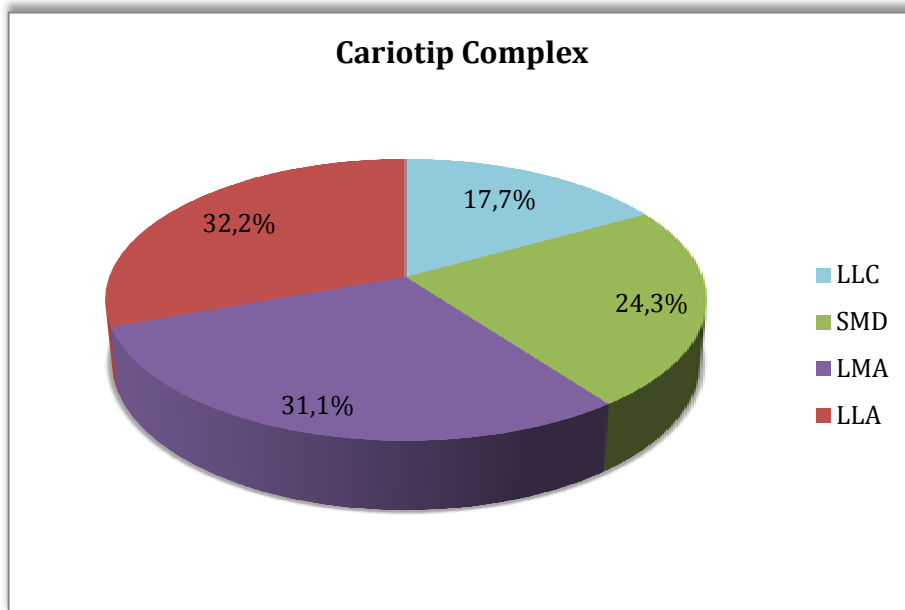
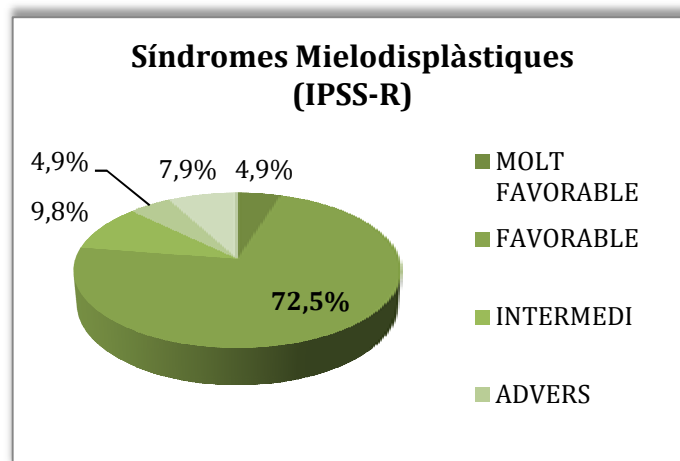


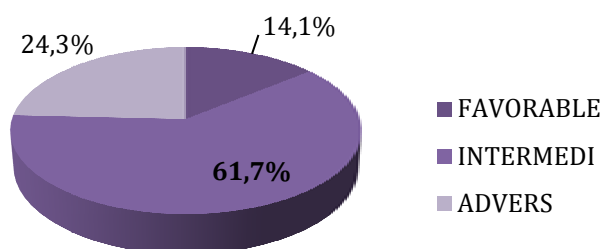
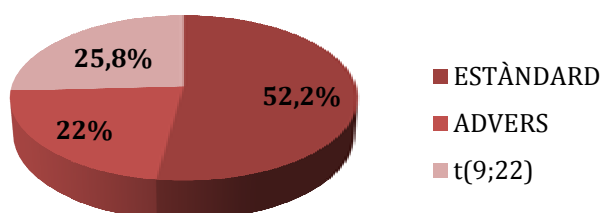
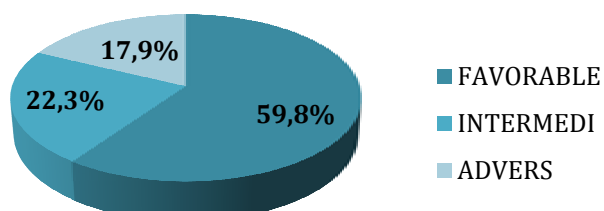
Figura 53. Distribució del percentatge de casos amb cariotip alterat i de casos amb cariotip complexo per hemopatia.





**Figura 54.** Representació gràfica dels grups de risc citogenètic en percentatges per a cada una de les hemopaties estudiades



**Leucèmia Mieloide Aguda****Leucèmia Limfoblàstica Aguda****Leucèmia Limfàtica Crònica**







---

## ***6.- DISCUSSIÓ***



---

### 6.1. Característiques Clínicas i d'Incidència de la sèrie

En la present tesi doctoral s'han descrit els resultats dels estudis citogenètics d'una sèrie de 2652 pacients diagnosticats de LMC (8,1% del casos), LMA (30,6%), LLA (8,3%), LLC (33,9%) i SMD (19,1%) (figura 51).

La mitjana de la taxa bruta d'incidència en la població ha estat per ordre decreixent de 5,5 casos /100.000 habitants i any per la LLC, 4,4 casos per la LMA, 1,4 casos per la LLA, 1,2 casos per la LMC i 3,5 casos per les SMD. El percentatge d'homes diagnosticats per a totes les hemopaties ha estat superior al de les dones. Les medianes d'edat per cada una de les malalties ha estat per ordre decreixent de 72 anys per les SMD, 69 anys per la LLC, 62 anys per la LMA, 53 anys per la LMC i 39 anys per la LLA. Si s'estableixen els grups d'edat següents: <30, 30-39, 40-49, 50-59, 60-69 i  $\geq 70$  anys, el percentatge de pacients diagnosticats de SMD, LMA i LLC, incrementa a cada dècada; per contra, en la LLA la freqüència màxima de pacients diagnosticats ha estat en el grup inferior als 30 anys, i en la LMC a partir dels 30 anys la freqüència s'ha mantingut estable (figura 52).

Les dades d'incidència, edat i sexe de les hemopaties malignes estudiades són semblants a les dades reportades per a altres països occidentals (taula 49, 50) (Matasar, Ritchie et al. 2006, Marcos-Gragera, Vilardell et al. 2006, Ma, Does et al. 2007, Yamamoto, Goodman 2008, Sant, Allemani et al. 2010, Neukirchen, Schoonen et al. 2011). La taxa d'incidència trobada en la LMC en la present tesi (1,2/100000-any) és semblant a la de l'estudi publicat per Sant et al (1,2/100000-amy) (Sant, Allemani et al. 2010), però superior a la publicada per Yamamoto et al (Yamamoto, Goodman 2008) (0,16/100000-any). Des de que es va definir la LMC per ser *BCR-ABL1* positiva, és una entitat amb un criteri diagnòstic ben establert, en el Sud d'Europa hi ha una incidència superior a la resta de regions europees (figura 3, pag. 35), estan d'acord amb el resultat del present estudi. En els països orientals les incidències són inferiors en totes les hemopaties, sent la LLC la que presenta més diferència (taula 49, 50). Una altra de les diferències que

s'observen entre els països occidentals i els orientals és l'edat mediana de diagnòstic de les diferents hemopaties, sobretot en la SMD (taula 50). Matsuda et al (Matsuda, Germing et al. 2010) observen que la mediana de presentació de la AR (SMD) en pacients diagnosticats al Japó és 10 anys per sota de la mediana de pacients diagnosticats a Alemanya.

**Taula 49. Relació de les taxes crues d'incidència (/100.000 habitant i any) i distribució del sexe a Europa, Nord Amèrica i zones d'Àsia de les cinc hemopaties malignes analitzades.**

	Taxa bruta d'incidència (100.000 habitants i any)	Sexe
<b>Leucèmia Mieloide Crònica</b>		
Dades Tesi	1,2	1,5:1 <sup>&amp;</sup>
Europa (ICD-O-3*) / Sant et al (2010)	1,1	1,23 /0,98 <sup>+</sup>
Nord Amèrica (ICD-O-3) / Yamamoto et al (2008)	0,16	0,18/0,14 <sup>#</sup>
població caucàsica	-	0,07/0,05 <sup>#</sup>
població hispànica	-	0,07/0,04 <sup>#</sup>
població d'origen africà	-	0,05/0,05 <sup>#</sup>
població asiàtica/Illes del Pacífic	-	0,07/0,06 <sup>#</sup>
Àsia / Au WY et al (2009)		
Xina	0,39-0,55	1,5:1 <sup>&amp;</sup>
Hong Kong	0,9	1,5:1 <sup>&amp;</sup>
Filipines	0,7-0,9	1,3:1 <sup>&amp;</sup>
Singapur	0,7	1,3:1 <sup>&amp;</sup>
Corea del sud	0,8	1,6:1 <sup>&amp;</sup>
Tailàndia	0,50	1,7:1 <sup>&amp;</sup>

\*ICD-O-3: *International Classification of Diseases for Oncology*

\*\*OMS 2008: Classificació segons l'Organització Mundial de la Salut 2008

& ràtio; + taxa bruta d'incidència (100.000 habitants i any) #taxa d'incidència estandarditzada per edat

	Taxa bruta d'incidència (100.000 habitants i any)	Sexe
<b>Síndromes Mielodisplàstiques</b>		
Dades Tesi	3,5	1,4:1 <sup>&amp;</sup>
Europa (ICD-O-3) / Sant et al (2010)	1,82	2,03/1,62 <sup>+</sup>
Düsseldorf (OMS 2008**) / Neukirchen J et al (2011)	3,78	4,30/3,32 <sup>#</sup>
Nord Amèrica (ICD-O-3) / Ma X et al (2007)	3,4 <sup>#</sup>	4,5/2,7 <sup>#</sup>
població caucàsica	3 <sup>#</sup>	-
població d'origen africà	2,6 <sup>#</sup>	-
població asiàtica / Illes del pacífic	1,38 <sup>#</sup>	-
Japó / Shimizu H et al (1995)	1	-
<b>Leucèmia Mieloide Aguda</b>		
Dades Tesi	4,4	1,3:1 <sup>&amp;</sup>
Europa (ICD-O-3) / Sant et al (2010)	3,62	3,90/3,35 <sup>+</sup>
Nord Amèrica (ICD-O-3) / Yamamoto et al (2008)	4,15	
població caucàsica	-	5,12/3,37 <sup>#</sup>
població hispànica	-	4,18/3,11 <sup>#</sup>
població d'origen africà	-	3,87/2,72 <sup>#</sup>
població asiàtica	-	4,16/2,72 <sup>#</sup>
Japó / Nakase K et al (2000)	-	1,4:1 <sup>&amp;</sup>

\*ICD-O-3: *International Classification of Diseases for Oncology*

\*\*OMS 2008: Classificació segons l'Organització Mundial de la Salut 2008

& ràtio; + taxa bruta d'incidència (100.000 habitants i any) #taxa d'incidència estandarditzada per edat

	Taxa bruta d'incidència (100.000 habitants i any)	Sexe
<b>Leucèmia Limfoblàstica Aguda</b>		
Dades Tesi	1,4	1,2:1 <sup>&amp;</sup>
Europa (ICD-O-3) / Sant et al (2010)	1,28	1,44/1,12
Girona (OMS 2008) / Marcos-Gragera R et al (2006)	1,6	
Nord Amèrica (ICD-O-3) / Yamamoto et al (2008)	1,92	
població caucàsica	2,02	2,43/1,62
població hispànica	2,46	2,88/2,05
població d'origen africà	1,27	1,54/1,00
població asiàtica	1,9	2,18/1,62
Xina / Ni X et al (2011)	0,81	0,86/0,75
<b>Leucèmia Limfàtica Crònica</b>		
Dades Tesi	5,5	1,6:1 <sup>&amp;</sup>
Europa (ICD-O-3) / Sant et al (2010)	4,92	5,87/4,01
Girona / Marcos-Gragera R et al (2006)	4	
Nord Amèrica (ICD-O-3) / Yamamoto et al (2008)	5,2	
població caucàsica	5,34	6,94/3,75
població hispànica	2,87	3,67/2,10
població d'origen africà	3,86	4,97/2,76
població asiàtica	1,59	2,06/1,13
Ruchlemer R et al (2013)		
Xina	-	2:1 <sup>&amp;</sup>
Japó	0,08 / 0,48	1,6:1 <sup>&amp;</sup>
Corea	0,04	-
Taiwan	<0,48	-

\*ICD-O-3: *International Classification of Diseases for Oncology*

\*\*OMS 2008: Classificació segons l'Organització Mundial de la Salut 2008

& ràtio; + taxa bruta d'incidència (100.000 habitants i any) #taxa d'incidència estandarditzada per edat



S'han observat diferències en la taxa crua d'incidència entre les quatre regions analitzades en cada una de les hemopaties malignes. Una de les limitacions de l'estudi és el fet de ser un recull de dades de manera retrospectiva, que ha implicat períodes diferents d'inclusió de malalts per cada un dels hospitals i que pot representar un biaix. Les taxes crues d'incidència trobades per la LMC, SMD, LMA i LLA en la regió sanitària R4 (L'Hospitalet i el Prat de Llobregat, Baix Llobregat, Garraf, Anoia, Alt Penedès) són significativament inferiors a la resta de regions. També s'observen diferències en les medianes d'edat entre regions per les entitats SMD, LMA i LLC. La mediana d'edat dels pacients diagnosticats en el regió sanitària R3 (Gironès, Pla de l'Estany, Selva Interior) són significativament inferiors a la resta de regions en totes les leucèmies estudiades. Per contra, la mediana d'edat dels pacients que pertanyen a la regió R2 (Tarragonès, terres de l'Ebre) són significativament superiors a la resta, tant en les SMD, com en la LMA i la LLC. Ni per la proporció d'homes ni de dones no s'han observat diferències entre regions sanitàries. Factors propis de cada un dels centres (alguns són referents per algunes de les hemopaties descrites) i una atenció mèdica altament especialitzada fa que les dades no siguin homogènies entre regions.

El resultat de la tesi, percentatge de casos amb cariotip alterat, tipus d'anomalia i percentatge de casos amb cariotip complex per malaltia són semblants amb els descrits en els diferents estudis en els països occidentals (Wetzler, Dodge et al. 1999, Dohner, Stilgenbauer et al. 2000, Slovak, Kopecky et al. 2000, Byrd, Mrozek et al. 2002, Ribera, Ortega et al. 2002, Haferlach, Kern et al. 2004, Mancini, Scappaticci et al. 2005, Sole, Luno et al. 2005, Bernasconi, Klersy et al. 2005, Haase, Germing et al. 2007, Haferlach, Dicker et al. 2007, Pozdnyakova, Miron et al. 2008, Pullarkat, Slovak et al. 2008, Lo-Coco, Cuneo et al. 2008, Castagnetti, Testoni et al. 2010, Moorman, Chilton et al. 2010, Grimwade, Hills et al. 2010, Fiegl, Erdel et al. 2010, Fabarius, Leitner et al. 2011, Marzocchi, Castagnetti et al. 2011, Oliveira, de la Banda et al. 2011, Giertlova, Hajikova et al. 2011, Schanz, Tuchler et al. 2012, Luatti, Castagnetti et al. 2012) (taula 50). L'estudi citogenètic (cariotip convencional complementat amb la tècnica de FISH) ha mostrat una

---

freqüència més elevada de casos amb alteracions en la LLA i LLC, després en les LMA i SMD. S'han trobat més casos amb cariotip complex (segons la definició per a cada una de les hemopaties) en les LLA, seguit de les LMA, SMD i finalment en la LLC (figura 53). En conseqüència, en les leucèmies agudes trobem una proporció de pacients amb cariotip complex inclosos en el grup de risc citogenètic advers superior que en les SMD i LLC, hemopaties considerades pre leucèmiques o cròniques. Podríem dir que l'acumulació d'anomalies que es manifesta en el cariotip complex aniria associat a hemopaties amb clínica més aguda, i per tant, més agressives, fet que també s'observa en l'AREB, subtipus de SMD en el llindar de la LMA (Zemanova, Michalova et al. , Greenberg, Tuechler et al. 2012) .

Taula 50. Resultats citogenètics de la tesi d'altres àrees geogràfiques.

<b>Síndromes Mielodisplàstiques</b>	<b>Sèrie</b>	<b>sexe (%) Homes/Dones</b>	<b>edat mediana (extrems)</b>	<b>Cariotip Alterat (%)</b>	<b>Anomalia més freqüent segons el Cariotip</b>	<b>Cariotip (≥3 anomalies)</b>
Dades Tesi	506	59/41	72 (22-96)	40,3	5q-	9,8
Internacional / Schanz et al (2011)	2902	58/42	70 (16-96)	44,9	5q-	9,1
Nord Amèrica / Pozdnyakova et al (2008)	1029	65/34	67 (19-92)	45	5q-	17,6
Alemanya i Àustria / Haase et al (2007)	2124	56/44	65,7 (0-96)	52,3	5q-	13,4
Itàlia / Bernasconi et al (2005)	331	63/37	63 (53-70)	62,2	5q-	9
Espanya / Solé et al (2005)	968	57/43	70 (1-94)	47	5q-	11,1
Xina / Qu et al (2012)	532	67/33	48 (16-81)	65	trisomia 8	16
Índia / Chaubey et al	40	01:01,2	42 (14-75)	47,5	monosomia 7	22,5
Xina / Wang et al (2010)	435	57/43	58 (18-90)	38,7	trisomia 8	23,2
Xina / Chen et al (2005)	508	1,35:1	49 (65-73)	37,1	trisomia 8	7,2
<b>Leucèmia Mieloide Aguda</b>	<b>Sèrie</b>	<b>sexe (%) Homes/Dones</b>	<b>edat mediana (extrems)</b>	<b>Cariotip Alterat (%)</b>	<b>Anomalia més freqüent segons el Cariotip</b>	<b>Cariotip (&gt;3 anomalies)</b>
Dades Tesi	813	57/43	62 (15-96)	56,4	t(15;17),inv(16),+8	17,5
Tunísia# / Gmidène et al (2012)	534	57/43	37 (0-95)	66,6	t(15;17),t(8;21),+8	8,8
Anglaterra (MRC) / Grimwade et al (2010)	1272	-	44 (16-59)	59	t(15;17),t(8;21),+8	9
Itàlia (GIMEMA)&# / Lo-Coco et al (2008)	397	-	46 (15-60)	57,2	t(8;21), inv(16),+8	4,3
Nord Amèrica (CALGB)&# / Byrd et al (2002)	1213	53/47	52 (15-96)	52	t(8;21), inv(16),+8	11,1
Nord Amèrica (SWOG) / Slovak et al (2000)	609	57/43	39 (16-55)	-	t(8;21), inv(16),+8	-
Xina# / So et al (2011)	629	1,2:1(ràtio)	43(-)	59	t(15;17),t(8;21),+8	7
Xina# / Cheng et al (2009)	1432	54/46	42 (4-84)	58	t(15;17),t(8;21),+8	6,4
Singapur# / Enjeti et al (2002)	501	66/34	48 (15-100)	61	t(15;17),+8	17

#de novo, &amp;t(15;17) no inclosa en l'estudi

<b>Leucèmia Limfoblàstica Aguda</b>	<b>Sèrie</b>	<b>sexe (%) Homes/Dones</b>	<b>edat mediana (extrems)</b>	<b>Cariotip Alterat (%)</b>	<b>Anomalia més freqüent segons el Cariotip</b>	<b>Cariotip (&gt;4 anomalies)</b>
Dades Tesi	219	55/45	39 (15-87)	75,3	t(9;22)	21,2
Anglaterra (MRC) / Moorman et al (2010)	349	1,2:1 (ràtio)	(15->70)	74	t(9;22)	7
Nord Amèrica (SWOG) / Pullarkat et al (2008)	200	60/40	32 (16-65)	78	t(9;22)	-
Itàlia / Mancini et al (2005)	378	60/40	31 (14-60)	70	t(9;22)	-
Espanya (PETHEMA) / Ribera et al (2002)	86**	58/42	33 (19-50)	70	t(9;22)	-
Nord Amèrica (CALGB) / Wetzler et al (1999)	256	61/39	33 (16-80)	69	t(9;22)	-
Xina (LLA-B) / Bao et al (2009)	137	48/52	44 (19-83)	77,7	t(9;22)	-
<b>Leucèmia Limfàtica Crònica</b>	<b>Sèrie</b>	<b>sexe (%) Homes/Dones</b>	<b>edat mediana (extrems)</b>	<b>Cariotip Alterat (%)/ FISH Alterat (%)</b>	<b>Anomalia més freqüent segons el Cariotip / FISH</b>	<b>Cariotip (≥3 anomalies)</b>
Dades Tesi	667	61/39	69 (27-95)	34,5 - 69,6	trisomia 12 / del(13)(q14)	5,1
Catalunya / Oliveira et al (2011)	135	65/35	67 (28-94)	20,4 - 68,7	/del(13)(q14)	5,1
Eslovàquia / Giertlova et al (2010)	86	62/38	65±9 (mitjana)	/45	/del(13)(q14)	-
Europeu* / Fielg et al (2010)	105	71/29	63 (49-92)	/84	/del(17)(p13)	-
Alemanya / Haferlach et al 2007	506	64/36	66 (31-86)	/78,4	/del(13)(q14)	-
Alemanya / Döhner et al (2010)	325	61/39	62 (30-87)	/82	/del(13)(q14)	-
Xina / Lai et al (2011)	275	67/33	61 (35-90)	/77,8	/del(13)(q14)	-
Turquia / Durak et al (2009)	79	65/35	64±1,2	/50,6	/del(13)(q14)	-
Xina / Qiu et al (2008)	143	74/26	62 (35-86)	/72,7	/del(13)(q14)	-
Japó / Asou et al (1993)	55	-	-	45,8/-	13q/-	>5,1

\*Sèrie de pacients que entren a tractament, \*\*sèrie de pacients adults

La freqüència de casos amb cariotip alterat mostra una tendència a presentar més cariotips alterats en els nens amb LMA i LLA (Olah, Balogh et al. 1997, Forestier, Johansson et al. 2000, Moorman, Chilton et al. 2010, Gmidene, Sennana et al. 2012) i s'han trobat anomalies pròpies de nens o adults joves com són les translocacions  $t(8;21)(q22;q22)$ ,  $inv(16)(p13q22)$  en les LMA (Grimwade, Hills et al. 2010) o la  $t(12;21)$  en la LLA (Ross, Zhou et al. 2003, Tomizawa, Koh et al. 2007) i altres pròpies de gent gran com és la  $t(9;22)(q34;q11.2)$  en les LLA (Ribera, Garcia et al. 2012). Els resultats de la tesi mostren en les SMD, LMA i LLA una tendència a presentar un percentatge de casos amb cariotip alterat superior en els pacients menors de 60 anys. Per contra, en les LLC el grup de pacients amb més casos amb cariotip alterat és el major de 60 anys. Sí que s'han detectat variacions segons el tipus d'anomalia, segons el grup d'edat i hemopatia, que seran discutides posteriorment en cada una de les entitats.

No s'han observat diferències entre sexes respecte el percentatge de casos amb cariotip alterat, sí pel tipus d'anomalia. La més coneguda és la deleció 5q com alteració única en la Síndrome 5q- i que es va descriure com una síndrome característica del gènere femení (Van den Berghe, Michaux 1997). En els resultats de la present sèrie tampoc s'han observat diferències significatives en el percentatge de casos amb cariotip alterat entre gèneres. Les d'anomalies observades que s'han associat al gènere seran discutides posteriorment en cada una de les entitats.

## **6.2. Comparació de la incidència i tipus d'alteracions cromosòmiques en la Leucèmia Mieloide Crònica**

El percentatge de casos amb translocació  $t(9;22)(q34;q11.2)$  en FC ha estat del 90,6%, de translocació variant  $[t(v;22)]$  del 6% i de casos amb anomalies que acompanyen el cromosoma Ph' del 3,4% en una sèrie de 181 casos amb fórmula cromosòmica. Per contra en FA o CB hi ha un 25% de casos amb translocació estàndard, 6,3% de  $t(v;22)$  i 68,7% de casos que presenten anomalies acompanyants. Els resultats són semblants a d'altres estudis (Fabarius, Leitner et al. 2011, Luatti, Castagnetti et al. 2012, Mu, Ma et al. 2012). Respecte les

---

microdelecions del cromosoma der(9)t(9;22) en la translocació t(9;22)(q34;q22.1), el percentatge ha estat del 18,9%, dintre dels rangs descrits (Primo, Taberero et al. 2003, Castagnetti, Testoni et al. 2010, Herens, Tassin et al. 2000, Jain, Parihar et al. 2012). La detecció de microdelecions depèn de la sonda utilitzada i de si es considera solament la translocació estàndard o també la translocació variant. La sonda que s'ha utilitzat en l'estudi és la de doble color i de doble fusió d'Abbot, la qual permet observar les dues fusions de la reordenació ens els cromosomes derivatius 9 i 22, per tant, permet detectar tant les delecions 5'ABL com les de la regió 3'BCR del cromosoma 9 derivatiu. Aquesta sonda detecta fragments grans i les delecions petites inferiors a 400 kb no es veuen. El percentatge de casos amb microdeleció varia entre 11 i 26% amb la sonda utilitzada en el present estudi (Herens, Tassin et al. 2000, Kolomietz, Al-Maghrabi et al. 2001, Huntly, Bench et al. 2002, Primo, Taberero et al. 2003, Lim, Tien et al. 2005, De Melo, Milojkovic et al. 2008, Kim, Popradi et al. 2008, Castagnetti, Testoni et al. 2010, Quintas-Cardama, Kantarjian et al. 2011, Marzocchi, Castagnetti et al. 2011, Fabarius, Leitner et al. 2011, Belli, Alu et al. 2011, Bennour, Ouahchi et al. 2012, Jain, Parihar et al. 2012, Luatti, Castagnetti et al. 2012, Mu, Ma et al. 2012) .

L'única diferència que s'observa en comparació entre regions sanitàries ha estat la freqüència de casos amb la translocació variant. S'ha observat un percentatge de casos més elevat en aquells pacients diagnosticats en la regió sanitària R3 (Gironès, Pla de l'Estany, Selva Interior) (15,8%) vs (0-5,7%). La causa la podríem atribuir a factors medi ambientals difícils d'esbrinar en el present estudi. La regió sanitària que cobreix l'hospital ICO-HJT no destaca respecte a les altres regions ni per l'activitat agrícola, ramadera ni la proporció de tràfic rodat. Podria ser degut a la mida de la mostra i seria interessant seguir l'estudi en aquesta línia per validar els resultats.

### **6.3. Comparació de la incidència i tipus d'alteracions cromosòmiques en la Leucèmia Mieloide Aguda**

El percentatge de casos amb cariotip alterat i classificats segons l'OMS 2008 ha

estat del 56,5%. EL nombre de casos amb una sola anomalia ha estat el més freqüent, seguit dels casos amb cariotip complex. El percentatge de casos amb cariotip alterat descrit en la literatura és entre el 52 i el 59% de la LMA de l'adult (>15 anys) (Byrd, Mrozek et al. 2002, Enjeti, Tien et al. 2004, Lo-Coco, Cuneo et al. 2008, Cheng, Wang et al. 2009, Grimwade, Hills et al. 2010, Kayser, Dohner et al. 2011, Miyawaki, Ohtake et al. 2011, So, Wan et al. 2011) .

Atenent els tipus d'anomalies s'ha observat una freqüència semblant a la resta de països occidentals depenent de les edats dels pacients inclosos en les diferents sèries descrites. Els casos amb les translocacions  $t(15;17)(q22;q12)$ ,  $t(8;21)(q22;q22)$  i inversió/translocacions del cromosoma 16 són més freqüents en la població inferior a 60 anys, i els casos amb cariotip complex són més freqüent en la població de 60 anys o superior (Lo-Coco, Cuneo et al. 2008, Grimwade, Hills et al. 2010) . El cariotip complex s'observa en una proporció superior dels pacients diagnosticats de LMA relacionada amb displàsia o secundària a un SMD.

En la present sèrie la distribució de casos per grups de risc citogenètic ha estat del 14,1% en el grup favorable, 61,7% en el grup intermedi i del 24,2% en el grup advers, segons els grups d'estudi MRC (Grimwade, Hills et al. 2010) . La proporció de cariotips monosòmics ha estat del 40,4% respecte als cariotips alterats classificats en els grups intermedi i advers. Les dades són molt semblants a les reportades en els diferents estudis publicats (Breems, Van Putten et al. 2008, Medeiros, Othus et al. 2010, Kayser, Zucknick et al. 2012) .

No s'han observat diferències entre les quatre regions sanitàries analitzades respecte al percentatge de casos amb cariotips alterats, la complexitat del cariotip, ni per la definició de cariotip monosòmic. Sierra et al en un estudi realitzat en la regió central, nord i sud d'Espanya troben que la  $t(15;17)(q22;q12)$  és més freqüent en la regió sud (21%), mentre que no hi detecten cap cas amb la  $t(8;21)(q22;q22)$  (Sierra, Alonso et al. 2006) . En el treball actual s'ha vist una tendència respecte al tipus d'anomalia i la regió; sobta el percentatge elevat de  $t(15;17)(q22;q12)$  i l'absència d'inversions del cromosoma 16 en els casos de l'ICO HJT (R3, Gironès-Pla de l'Estany-Selva Interior), tot i així en aquesta regió es

---

té un nombre de pacients petit i les dades poden quedar magnificades.

En l'anàlisi dels grups de risc citogenètic si que s'observen diferències significatives: la sèrie de pacients diagnosticats de LMA en l'HVC/HJXXIII (R2, Tarragonès-Terres de l'Ebre) presenta una freqüència menor de cariotips del grup favorable; aquesta regió té una mediana d'edat superior a la resta de regions, per tant, pocs pacients joves, que serien els que presentarien les anomalies del grup favorable. En la sèrie de pacients diagnosticats en l'hospital ICO-DiR (R4, Hospitalet-Baix Llobregat-Garraf-Anoia-Alt Penedès) s'observen més pacients de risc advers com a conseqüència d'englobar més anomalies de mal pronòstic més que per la freqüència de cariotips complexos o per tenir una proporció elevada de pacients de 60 o més anys.

#### **6.4. Comparació de la incidència i tipus d'alteracions cromosòmiques en la Leucèmia Limfoblàstica Aguda**

El percentatge de cariotips alterats de pacients diagnosticats de **LLA** i classificats segons l'OMS 2008 ha estat del 75.3%. El nombre de cariotips alterats amb una sola anomalia ha estat el més freqüent. L'anomalia cromosòmica amb més nombre de casos ha estat el cromosoma Ph' tant en el cariotip d'una anomalia, dues, tres, quatre o complex, fet que està descrit en la literatura científica (Rieder, Ludwig et al. 1996, Ko, Tang et al. 2002, Wetzler, Dodge et al. 2004) . Els grans grups de tractament europeus, americans i un grup d'estudi xinès descriuen un percentatge entre un 70% i un 78% de cariotips alterats en la població adulta (>14 anys), essent la t(9;22)(q34;q11.2) l'anomalia més freqüent com demostra la tesi (Wetzler, Dodge et al. 1999, Ribera, Ortega et al. 2002, Mancini, Scappaticci et al. 2005, Pullarkat, Slovak et al. 2008, Bao, Gross et al. 2009, Moorman, Chilton et al. 2010) . Per grups d'edat, la presència de cromosoma Ph' ha estat més freqüent en els pacients majors de 40 anys (15,9% vs 33%), i no s'ha observat un increment estadísticament significatiu en el grup de 60 anys o més grans. Secker-Walker LM et al troben que en els adolescents (15-20 anys) el cromosoma Ph' es troba en un 10.3%, en els pacients entre 21-50 anys en un 21.8%, i en els pacients de més de 50 anys en un 43.8% (p< 0.01)



(Secker-Walker, Craig et al. 1991) . La resta d'anomalies definides per l'OMS 2008,  $t(4;11)(q21;q23)$ ,  $t(1;19)(q23;p13.3)$ , hiperdiploïdia (51-65 cromosomes) i hipodiploïdia (<40 cromosomes), s'han observat entre un 2,7 i un 3,7%, resultats semblants al descrits en la literatura científica. Per Moorman AV et al la  $t(4;11)(q21;q23)$  representa un 4% dels pacients i solament una pacient té més de 60 anys, per la  $t(1;19)(q23;p13.3)$  representa un 3% i cap d'ells supera els 60 anys, per la hiperdiploïdia (51-65 cromosomes) representa un 7% i és més freqüent en el grup d'edat entre 15 i 29 anys, i per la hipodiploïdia (<40 cromosomes) representa un 3% i té una tendència a incrementar amb el grup d'edat (Moorman, Chilton et al. 2010) . Aquesta distribució d'anomalies cromosòmiques també s'observa en aquesta tesi. El concepte de cariotip complex en els protocols de tractament de LLA en l'adult ha estat recentment descrit i introduït per Moorman AV et al (Moorman, Harrison et al. 2007) , qui defineix cariotip complex aquells cariotips de més de quatre anomalies excloent les entitats definides per l'OMS 2008 (7% dels pacients). En l'estudi actual el nombre de cariotips amb més de 4 anomalies ha representat un 21,2%, superior al de Moorman AV et al ja que en el moment de l'anàlisi no es van excloure les entitats definides per la OMS 2008. La distribució per grups de risc citogenètic ha estat del 52,2% en el grup estàndard, 22% en el grup advers i del 25,8% en el grup de pacients amb presència del cromosoma Ph', segons la classificació de Moorman et al (Moorman, Chilton et al. 2010) . Les dades són molt semblants a les descrites als diferents estudis publicats (Ribera, Ortega et al. 2002, Mancini, Scappaticci et al. 2005, Pullarkat, Slovak et al. 2008, Moorman, Chilton et al. 2010, Ni, Shen et al. 2011) .

No s'han observat diferències estadísticament significatives entre les quatre regions sanitàries analitzades respecte al percentatge de citogenètiques alterades, la complexitat del cariotip, ni pels grups de risc citogenètic. Tot i així, hi ha una tendència a presentar més cariotips complexos a la regió del Gironès-Pla de l'Estany-Selva Interior, com s'ha anat dient en les hemopaties anteriorment descrites.

Tot i que el nombre de casos diagnosticats de LLA en el hospital ICO HDiR

---

(L'Hospitalet i el Prat de Llobregat, Baix Llobregat, Garraf, Anoia, Alt Penedès) és el més baix, és la regió amb un major percentatge de LLA Ph'+ (47,1%); per contra els pacients diagnosticats en l'ICO HJT (Gironès-Pla de l'Estany-Selva Interior) amb un nombre de casos semblant a la resta de regions, és el centre amb un menor percentatge de LLA Ph'+ (15,8%). Possibles variacions poblacionals respecte la LLA Ph'+ només s'han observat a nivell d'edat i la mediana d'edat en les quatre regions ha estat semblant, per tant, aquest fet no justificaria la variació de casos Ph'+. No hi ha treballs epidemiològics específics d'aquesta entitat que justifiquessin aquesta diferència. Davant d'una població homogènia en les quatre regions podria atribuir-se la diferència a factors medi ambientals o d'estil de vida.

#### **6.5. Comparació de la Incidència i tipus d'alteracions cromosòmiques en la Leucèmia Limfàtica Crònica**

El percentatge de cariotips alterats de pacients diagnosticats de LLC ha estat del 34,5%, sent el cariotip amb una sola anomalia el més freqüent. Per contra, quan s'ha utilitzat la tècnica de FISH, el percentatge de casos alterats ha estat del 69,6%, sent igualment la presència d'una sola anomalia el més observat. Per tant, com en altres sèries, l'aplicació de la tècnica de FISH ha facilitat la detecció d'anomalies que per tècniques convencionals són críptiques o no detectable perquè la clona patològica no es divideix (Dohner, Stilgenbauer et al. 1999, Oliveira, de la Banda et al. 2011) . L'exemple més clar és la deleció de 13q14.3 que s'ha descrit com a l'anomalia més freqüent per FISH, mentre que per tècniques convencionals és difícil de detectar. Tot i així la proporció en el nombre d'anomalies es manté tant amb la tècnica convencional com amb la tècnica de FISH, sent el cariotip d'una anomalia la més freqüent per les dues tècniques (Asou, Takechi et al. 1993, Dohner, Stilgenbauer et al. 1999, Athanasiadou, Stamatopoulos et al. 2006, Lai, Huang 2011, Oliveira, de la Banda et al. 2011) . La deleció 13q14.3 ha estat l'única anomalia que s'ha observat conjuntament amb la trisomia 12, la del(11)(q22) o la del(17)(p13); solament la trisomia 12 s'ha vist conjuntament amb les delecions de 11q22.3 o 17p13.1 en 6 casos (0,8%).

Döhner H et al descriuen per primera vegada, la freqüència d'anomalies detectades per FISH i la seva correlació clínica (Dohner, Stilgenbauer et al. 2000) . A cada una d'aquestes anomalies s'han descrit característiques clíniques i de laboratori: les delecions de *TP53/del(17p)* van associades a estadis avançats de la malaltia comparat amb les altres anomalies cromosòmiques (estadis B i C segons Binet), i presenten amb més freqüència anèmia, plaquetopènia, leucocitosi i xifres de LDH elevades, esplenomegàlia i presència d'adenopaties, el temps des del diagnòstic fins el requeriment de tractament són més curts, per tant amb corbes de supervivència inferiors a la resta d'anomalies (Dohner, Fischer et al. 1995, Geisler, Philip et al. 1997, Dohner, Stilgenbauer et al. 2000, Haferlach, Dicker et al. 2007, Delgado, Espinet et al. 2012, Gladstone, Blackford et al. 2012) . Les delecions de *ATM/del(11q)* va associades a pacients més joves, a leucocitosi i xifres elevades de LDH, també poden presentar-se amb més freqüència en homes, en estadis més avançats (B i C de Binet), poden presentar anèmia, esplenomegàlia, adenopaties i els temps des del diagnòstic fins al tractament són més curts que en el cas de les trisomies 12 i delecions 13q, per tant amb unes corbes de supervivència inferiors a aquestes anomalies però superiors a les delecions *TP53/del(17)(p)* (Döhner, Stilgenbauer et al. 1997, Dohner, Stilgenbauer et al. 2000, Haferlach, Dicker et al. 2007, Gladstone, Blackford et al. 2012) . El més característic que s'ha descrit de la trisomia 12 com a única anomalia és la seva atípia a nivell morfològic i fenotípic (Hjalmar, Kimby et al. 1998) ; respecte a la seva supervivència, és inferior a la del cariotip normal i a les LLC amb delecions 13q (Dohner, Stilgenbauer et al. 2000, Haferlach, Dicker et al. 2007) . Finalment les delecions 13q13 es caracteritzen per ser l'anomalia cromosòmica més freqüent com alteració única per FISH (66%), que s'observa en un 34% dels casos com anomalia acompanyant de la resta i que en un 24% dels pacients la delecio és bial·lèlica. Es considera de bon pronòstic sempre i quant el percentatge de nuclis amb delecio bial·lèlica no superi el 60% de les cèl·lules analitzades (Dohner, Stilgenbauer et al. 2000, Haferlach, Dicker et al. 2007, Dal Bo, Rossi et al. 2011, Smonskey, Block et al. 2012) .

Tot i que la incidència de casos diagnosticats de LLC incrementa en la població de

---

més edat, no s'han trobat diferències respecte al percentatge de cariotips alterats o FISH alterats segons el grup d'edat. Quan s'ha analitzat la distribució del tipus d'anomalia en els pacients més joves de 60 anys o de 60 o més anys s'ha vist que les delecions 13q14.3 i 11q22.3 han estat més freqüents en els pacients joves i la trisomia 12 i les delecions 17p13.1 en els pacients més grans, sense ser estadísticament significatiu. Alhora d'analitzar segons el gènere el global d'anomalies per cariotip o per FISH és molt semblant en els dos gèneres, però segons el tipus d'anomalia si que s'han observat diferències estadísticament significatives, destacant que tant per cariotip com per FISH la trisomia del cromosoma 12 s'observa amb més freqüència en les dones i les delecions 11q22.3(*ATM*) en els homes.

Sobre la base dels treballs publicats en quant el pronòstic de les anomalies cromosòmiques que es troben en més freqüència en la LLC s'ha definit tres grups bàsics: *favorable*, delecions 13q14.3 aïllades, entre el 45% i 66%, *intermedi*, trisomies 12 aïllades i cariotips normals, que representen un 32% i un tercer grup *advers*, les delecions d'*ATM* i TP53 que representen entre un 17%-25% (Dohner, Stilgenbauer et al. 2000, Qiu, Xu et al. 2008, Durak, Akay et al. 2009, Fiegl, Erdel et al. 2010, Oliveira, de la Banda et al. 2011, Lai, Huang 2011, Woyach, Ruppert et al. 2011) , dades que coincideixen amb els resultats presentats.

No s'han observat diferències entre les quatre regions sanitàries analitzades respecte al percentatge de citogenètiques alterades, ni per tipus d'anomalia, ni per la complexitat del cariotip, ni per grup de risc citogenètic. Esmentar que en el grup de pacients diagnosticats en l'ICO HJT (Gironès/Pla de l'Estany/Selva Interior) s'ha observat una tendència a presentar cariotips amb 3 o més anomalies (complexos per LLC) superior a les altres regions. Respecte al publicat a la literatura científica tampoc es troben diferències citogenètiques entre regions separades geogràficament (Asou, Takechi et al. 1993, Qiu, Xu et al. 2008, Durak, Akay et al. 2009, Lai, Huang 2011) .

## **6.6. Comparació de la incidència i del tipus d'alteracions cromosòmiques en les Síndromes Mielodisplàstiques**

El percentatge de cariotips alterats de pacients diagnosticats de SMD i classificats segons l'OMS 2008 ha estat del 40,3%, molt semblant als resultats publicats en altres sèries (39% - 47%) (Chen, Zhao et al. 2005, Sole, Luno et al. 2005, Bernasconi, Klersy et al. 2005, Haase, Germing et al. 2007, Pozdnyakova, Miron et al. 2008, Wang, Wang et al. 2010, Chaubey, Sazawal et al. 2011, Schanz, Tuchler et al. 2012, Qu, Xu et al. 2012) . La majoria són estudis de pacients diagnosticats de SMD i classificats segons l'OMS 2008, excepte els treballs publicats abans del 2008 on hi ha incloses les LMMC i AREB amb més d'un 19% de blastos (Sole, Luno et al. 2005, Chen, Zhao et al. 2005, Bernasconi, Klersy et al. 2005, Haase, Germing et al. 2007, Pozdnyakova, Miron et al. 2008) . Qu et al (2012) descriuen un 65% d'anomalies, que és una freqüència molt alta en una selecció de pacients diagnosticats de SMD primaris dins d'una cohort de pacients amb una distribució geogràfica molt gran, on engloben tant regions rurals com urbanes (del Sud Est d'Àsia) (Qu, Xu et al. 2012) . En la nostra sèrie el cariotip alterat amb una anomalia ha estat el més freqüent, essent la deleció del cromosoma 5q la més freqüentment observada, seguida de la trisomia 8. Entre els cariotips de dues anomalies, l'alteració més freqüent ha estat el 5q- amb una altra alteració, la monosomia del cromosoma 7 o 7q- més una altra anomalia i la trisomia 8 més una altra; pel que fa als cariotips complexos, les anomalies dels cromosomes 5 i 7 també han estat les més freqüents. Són resultats molt semblants als publicats per Schanz et al (2012) (Schanz, Tuchler et al. 2012) . Als estudis realitzats a la població xinesa i a la població japonesa, la freqüència en el tipus d'anomalia varia respecte a els països occidentals, la trisomia del cromosoma 8 és la més freqüent i les delecions 5q són rares (Wang, Wang et al. 2010, Qu, Xu et al. 2012, Yagisawa, Okazuka et al. 2012) . El percentatge de cariotips complexos, incloent-hi la sèrie del treball actual varia entre el 9% i 18% en els països occidentals, i entre el 16% i 23%, a excepció de Chen B et al que només n'observa un 7% (Chen, Zhao et al. 2005) . Aquestes variacions poden estar influïdes pel fet d'incloure a la sèrie els casos catalogats d'AREB en transformació (20-30% de blastos a la MO) (OMS, 2001) que comporten un percentatge de cariotips complexos superior. La distribució de pacients segons

---

els grups de risc citogenètic és la mateixa que la reportada pels sistemes de puntuació IPSS-R (Schanz, Tuchler et al. 2012) .

El tipus d'anomalia varia de manera significativa amb el grup d'edat, les delecions 5q s'observen amb unes medianes de 68 anys, la trisomia del cromosoma 8 presenta una mediana de 70 anys i la pèrdua del cromosoma Y de 73 anys (Pozdnyakova, Miron et al. 2008, Schanz, Tuchler et al. 2012) . En la nostra sèrie han estat més freqüents les delecions 5q, 11q- i cariotips complexos (anomalies estructurals) en el grup d'edat inferior a 60 anys. Per contra en aquells pacients amb 60 anys o més el cariotip més freqüent ha estat la trisomia 8, pèrdua del cromosoma Y i monosomia 7/7q- sense ser estadísticament significatiu. En la distribució per tipus d'anomalia i per sexe, és de destacar que la delecio 5q ha estat més freqüent en les dones i la trisomia 8 en els homes de forma estadísticament significativa. Van den Bergue et al ja van descriure que la Síndrome 5q- es caracteritzava per presentar-se majoritàriament en dones (Van den Berghe, Michaux 1997) , però no s'ha trobat descrit en la literatura cap relació entre la presència de la trisomia 8 i el sexe masculí.

A l'hora de comparar els resultats citogenètics entre les quatre regions sanitàries analitzades, s'han observat diferències estadísticament significatives en relació al nombre de casos amb cariotip normal i alterat, i la presència de cariotips complexos. No pel tipus d'anomalia, ni pels grups de risc citogenètic (IPSS-R).

La sèrie de pacients diagnosticats de SMD en l'ICO HGTIP (R1, Barcelonès, Nord Baix Maresme) presenta un percentatge més elevat de cariotips alterats que la resta de pacients inclosos en els altres hospitals estudiats (47,7% vs 30% – 39,4%). La sèrie és la més àmplia i de resultats més semblants als publicats. Per contra, tant la sèrie de pacients diagnosticats de SMD en els hospitals HVC/HJXXIII (R2, Tarragonès, Terres de l'Ebre) i a l'ICO HJT (R3, Gironès-Pla de l'Estany-Selva Interior) el nombre de cariotips alterats és inferior al descrit, per tant, són regions que presenten més normalitat citogenètica, en unes sèries de pacients més petites.

Com succeeix en la LMC, en l'ICO-HJT (R3, Gironès-Pla de l'Estany-Selva Interior) ens trobem un percentatge de cariotips complexos superior a la resta. L'hospital

ICO-DiR (R4, L'Hospitalet i el Prat de Llobregat, Baix Llobregat, Garraf, Anoia, Alt Penedès) solament presenta un 9,8% de casos complexos, els hospitals HVC/HJXXII un 19,4%, l'hospital ICO HGTIP un 30,1% i finalment l'hospital ICO HJT un 44,4%. És clar que en el cas de l'ICO HJT només hi ha una sèrie de 9 pacients amb cariotip alterat, 4 dels quals són complexos. Les SMD són el grup d'hemopaties més difícil de diagnosticar, tant per les entitats més indolents, com l'AR, o com per les més agressives com és l'AREB en el llindar de la LMA; per tant, es creu que les diferències trobades també podrien quedar justificades per un cert grau de variabilitat en l'observació i el diagnòstic. L'AR és un dels subtipus citològic amb més percentatge de cariotips normals i l'AREB el subtipus citològic amb més cariotips alterats i alhora més complexos (Pozdnyakova, Miron et al. 2008) .

En definitiva, en les SMD hi ha un factor molt important que és la variabilitat d'observació i això representa una de les limitacions d'aquest estudi. S'ha de remarcar que el grau de complexitat és superior en la regió sanitària que abasta l'hospital ICO-HJT (R3, Gironès-Pla de l'Estany-Selva Interior) i molt inferior en la regió sanitària de l'hospital ICO-DiR (R4, L'Hospitalet i el Prat de Llobregat, Baix Llobregat, Garraf, Anoia, Alt Penedès).

Així doncs, els pacients diagnosticats en l'ICO HJT i que corresponen a la regió sanitària Gironès/Pla de l'Estany/Selva Interior sembla ser que presenten més complexitat en els cariotips que a la resta de regions, sigui pel nombre de casos inclosos o per factors medi ambientals.

Les limitacions principals de la tesi han estat el biaix poblacional a causa dels diferents períodes d'inclusió de pacients en cada una de les regions sanitàries i la variabilitat en el criteri diagnòstic citològic sense una revisió centralitzada. L'hospital ICO DiR, en els anys de recollida de dades, ha anat ampliant la seva cobertura sanitària, sent actualment l'hospital de referència a més a més de les poblacions de l'Hospitalet i el Baix Llobregat, de les comarques del Garraf, de l'Anoia i Alt Penedès. A aquestes zones hi ha hospitals comarcals amb capacitat

---

de diagnosticar i controlar les hemopaties menys agressives, per tant, no es pot assegurar que tots els pacients amb diagnòstic d'hemopatia maligna hagin estat diagnosticats en l'ICO DiR.

La tesi ha proporcionat una visió global de possibles diferències genètiques entre les quatre regions sanitàries incloses que en un futur s'haurien de validar amb estudis prospectius. El nombre de casos inclosos en alguna de les regions és petit respecte a les altres. És necessària la creació de registres de neoplàsia mieloide i limfoide en les diferents regions sanitàries de Catalunya per facilitar futurs estudis epidemiogenètics.

D'altra banda, la citogenètica (anàlisi dels cromosomes) i les tècniques de biologia molecular (anàlisi de polimorfismes mitjançant tècniques de PCR, l'anàlisi d'expressió gènica per *microarrays* o *la seqüenciació massiva*) són nous mitjans de mesura de bio marcadors en estudis epidemiològics per comprendre els mecanismes del càncer i la seva relació amb l'exposició a factors medi ambientals.







## ***7.- CONCLUSIONS***

---

***El percentatge de casos amb cariotip alterat, cariotip complex, el tipus d'anomalia i la distribució de casos segons els grups de risc citogenètic en la LMC, SMD, LMA, LLA i LLC de pacients diagnosticats en els centres ICO-HGTIP, HJXIII/HVC, ICO-HJT i ICO-HDiR estan dins dels rangs observats en els països occidentals.***

**7.1.** El percentatge de casos amb cariotip alterat en els casos diagnosticats de SMD ha estat del 40,3%, en les LMA del 56,5%, en les LLA del 75,3%, i en el casos diagnosticats de LLC del 77,9% (cariotip més FISH).

**7.2** L'anomalia més freqüent en els pacients diagnosticats de SMD ha estat la deleció 5q, en la LMA la t(15;17)(q22;q12), en la LLA la t(9;22)(q34;q11.2) i en la LLC la trisomia 12 per cariotip i la del(13)(q14) per FISH.

**7.3.** El percentatge de casos amb cariotip complex en els pacients diagnosticats de SMD ha estat del 24,4%, en la LMA del 31,1%, en la LLA del 28,5% i en la LLC ha estat del 17,2%.

**7.4.** En el grup de pacients menors de 60 anys les anomalies més freqüents que s'han observat de manera estadísticament significativa han estat la t(15;17)(q22;q12), t(8;21)(q22;q22) i inv(16)(p13q22) en el cas de la LMA, i la t(1;19)(q23;p13.3), t(4;11)(q21;q23) i hiperdiploïdia en el cas de la LLA. En el grup de pacients de 60 anys o més grans les anomalies més freqüents que s'han observat de manera estadísticament significativa han estat el cariotip complex en el cas de la LMA i la t(9;22)(q34;q11.2) en el cas de la LLA.

**7.5.** En el grup de pacients de sexe femení les anomalies més freqüents que s'han observat de manera estadísticament significativa han estat la deleció 5q en el

cas de les SMD i la trisomia 12 en el cas de la LLC. En el grup de pacients de sexe masculí les anomalies més freqüents que s'han observat de manera estadísticament significativa han estat la trisomia 8 en el cas de les SMD i les delecions 11q22.3/ATM en el cas de la LLC.

**S'han trobat algunes diferències significatives en l'estudi citogenètic de les malalties analitzades segons la regió sanitària definida per cada un dels hospitals, que es podrien justificar per la variació en el nombre de casos inclosos en cada un dels centres, la variabilitat d'observació en el diagnòstic i l'alta especialització dels centres en algunes de les hemopaties.**

**7.6.** Els pacients que han estat diagnosticats en l'Hospital ICO-HGTIP (regió R1, Barcelonès Nord/Baix Maresme) presenten de manera estadísticament significativa en el cas de les SMD, més proporció de cariotips alterats i un percentatge de casos en el grup de risc citogenètic advers superior a la resta de centres.

**7.7.** Els pacients que han estat diagnosticats en l'Hospital ICO-HJT (Regió R3, Gironès/Pla de l'Estany/Selva Interior) presenten de manera estadísticament significativa més casos de translocació variant a la t(9;22) en el cas de la LMC i més cariotips complexos en el cas de les SMD que la resta de centres.

**7.8.** Els pacients que han estat diagnosticats en els Hospitals HVC/HJXXIII (regió R2, Terres de l'Ebre/Tarragonès) presenten de manera estadísticament significativa en el cas de la LMA un percentatge de casos en el grup de risc citogenètic favorable inferior a la resta de centres.



## ***8.-BIBLIOGRAFIA***

---

Chromosomal abnormalities and their clinical significance in acute lymphoblastic leukemia. Third International Workshop on Chromosomes in Leukemia. 1983. *Cancer research*, **43**(2), pp. 868-873.

AGUIAR, R.C., 1998. Therapy-related chronic myeloid leukemia: an epidemiological, clinical and pathogenetic appraisal. *Leukemia & lymphoma*, **29**(1-2), pp. 17-26.

ALBANO, F., ANELLI, L., ZAGARIA, A., COCCARO, N., CASIERI, P., ROSSI, A.R., VICARI, L., LISO, V., ROCCHI, M. and SPECCHIA, G., 2010. Non random distribution of genomic features in breakpoint regions involved in chronic myeloid leukemia cases with variant t(9;22) or additional chromosomal rearrangements. *Molecular cancer*, **9**, pp. 120.

ALBIN, M., BJORK, J., WELINDER, H., TINNERBERG, H., MAURITZSON, N., JOHANSSON, B., BILLSTROM, R., STROMBERG, U., MIKOCZY, Z., AHLGREN, T., NILSSON, P.G., MITELMAN, F. and HAGMAR, L., 2000. Acute myeloid leukemia and clonal chromosome aberrations in relation to past exposure to organic solvents. *Scandinavian journal of work, environment & health*, **26**(6), pp. 482-491.

ASOU, H., TAKECHI, M., TANAKA, K., TASHIRO, S., DOHY, H., OHNO, R. and KAMADA, N., 1993. Japanese B cell chronic lymphocytic leukaemia: a cytogenetic and molecular biological study. *British journal of haematology*, **85**(3), pp. 492-497.

ATHANASIADOU, A., STAMATOPOULOS, K., TSEZOU, A., VADIKOLIA, C., ASTERIOU, O., FASSAS, A. and ANAGNOSTOPOULOS, A., 2006. Report of novel chromosomal abnormalities in a series of 130 chronic lymphocytic leukemia patients studied by classic cytogenetic analysis. *Leukemia & lymphoma*, **47**(10), pp. 2084-2087.

AU, W.Y., CAGUIOA, P.B., CHUAH, C., HSU, S.C., JOOTAR, S., KIM, D.W., KWEON, I.Y., O'NEIL, W.M., SAIKIA, T.K. and WANG, J., 2009. Chronic myeloid leukemia in Asia. *International journal of hematology*, **89**(1), pp. 14-23.

BACCARANI, M., DEININGER, M.W., ROSTI, G., HOCHHAUS, A., SOVERINI, S., APPERLEY, J.F., CERVANTES, F., CLARK, R.E., CORTES, J.E., GUILHOT, F., HJORTH-HANSEN, H., HUGHES, T.P., KANTARJIAN, H.M., KIM, D.W., LARSON, R.A., LIPTON, J.H., MAHON, F.X., MARTINELLI, G., MAYER, J., MULLER, M.C., NIEDERWIESER, D., PANE, F., RADICH, J.P., ROUSSELOT, P., SAGLIO, G., SAUSSELE, S., SCHIFFER, C., SILVER, R., SIMONSSON, B., STEEGMANN, J.L., GOLDMAN, J.M. and HEHLMANN, R., 2013. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood*, **122**(6), pp. 872-884.

BAO, L., GROSS, S.A., RYDER, J., WANG, X., JI, M., CHEN, Y., YANG, Y., ZHU, S. and IRONS, R.D., 2009. Adult precursor B lymphoblastic leukemia in Shanghai, China: characterization of phenotype, cytogenetics and outcome for 137 consecutive cases. *International journal of hematology*, **89**(4), pp. 431-437.

BATTAGLIOLI, T., GORINI, G., COSTANTINI, A.S., CROSIGNANI, P., MILIGI, L., NANNI, O., STAGNARO, E., TUMINO, R. and VINEIS, P., 2006. Cigarette smoking and alcohol consumption as determinants of survival in non-Hodgkin's lymphoma: a population-based study. *Annals of Oncology : Official Journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*, **17**(8), pp. 1283-1289.

BAUDUER, F., DUCOUT, L., DASTUGUE, N. and MAROLLEAU, J.P., 2002. Chronic myeloid

---



leukemia as a secondary neoplasm after anti-cancer radiotherapy: a report of three cases and a brief review of the literature. *Leukemia & lymphoma*, **43**(5), pp. 1057-1060.

BEANE FREEMAN, L.E., BLAIR, A., LUBIN, J.H., STEWART, P.A., HAYES, R.B., HOOVER, R.N. and HAUPTMANN, M., 2009. Mortality from lymphohematopoietic malignancies among workers in formaldehyde industries: the National Cancer Institute Cohort. *Journal of the National Cancer Institute*, **101**(10), pp. 751-761.

BELLI, C., ALU, M.F., ALFONSO, G., BIANCHINI, M. and LARRIPA, I., 2011. Novel variant Ph translocation t(9;22;11)(q34;q11.2;p15)inv(9)(p13q34) in chronic myeloid leukemia involving a one-step mechanism. *Cytogenetic and genome research*, **132**(4), pp. 304-308.

BENNOUR, A., OUAHCHI, I., BEN YOUSSEF, Y., ZAHER, M., LAATIRI, M.A., HARRABI, I., MEDDEB, B., ELLOUMI, M., KHELIF, A., SAAD, A. and SENNANA, H., 2012. Molecular cytogenetic study of derivative chromosome 9 deletion in chronic myeloid leukemia patients. *Medical oncology (Northwood, London, England)*, **29**(2), pp. 1151-1160.

BERNASCONI, P., KLERSY, C., BONI, M., CAVIGLIANO, P.M., CALATRONI, S., GIARDINI, I., ROCCA, B., ZAPPATORE, R., CARESANA, M., QUARNA, J., LAZZARINO, M. and BERNASCONI, C., 2005. Incidence and prognostic significance of karyotype abnormalities in de novo primary myelodysplastic syndromes: a study on 331 patients from a single institution. *Leukemia : official journal of the Leukemia Society of America, Leukemia Research Fund, U.K.*, **19**(8), pp. 1424-1431.

BIZZOZERO, O.J., Jr, JOHNSON, K.G. and CIOCCO, A., 1966. Radiation-related leukemia in Hiroshima and Nagasaki, 1946-1964. I. Distribution, incidence and appearance time. *The New England journal of medicine*, **274**(20), pp. 1095-1101.

BJORK, J., ALBIN, M., MAURITZSON, N., STROMBERG, U., JOHANSSON, B. and HAGMAR, L., 2001. Smoking and acute myeloid leukemia: associations with morphology and karyotypic patterns and evaluation of dose-response relations. *Leukemia research*, **25**(10), pp. 865-872.

BJORK, J., ALBIN, M., WELINDER, H., TINNERBERG, H., MAURITZSON, N., KAUPPINEN, T., STROMBERG, U., JOHANSSON, B., BILLSTROM, R., MIKOCZY, Z., AHLGREN, T., NILSSON, P.G., MITELMAN, F. and HAGMAR, L., 2001. Are occupational, hobby, or lifestyle exposures associated with Philadelphia chromosome positive chronic myeloid leukaemia? *Occupational and environmental medicine*, **58**(11), pp. 722-727.

BREEMS, D.A., VAN PUTTEN, W.L., DE GREEF, G.E., VAN ZELDEREN-BHOLA, S.L., GERSSEN-SCHOORL, K.B., MELLINK, C.H., NIEUWINT, A., JOTTERAND, M., HAGEMEIJER, A., BEVERLOO, H.B. and LOWENBERG, B., 2008. Monosomal karyotype in acute myeloid leukemia: a better indicator of poor prognosis than a complex karyotype. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, **26**(29), pp. 4791-4797.

BROSSELIN, P., RUDANT, J., ORSI, L., LEVERGER, G., BARUCHEL, A., BERTRAND, Y., NELKEN, B., ROBERT, A., MICHEL, G., MARGUERITTE, G., PEREL, Y., MECHINAUD, F., BORDIGONI, P., HEMON, D. and CLAVEL, J., 2009. Acute childhood leukaemia and residence next to petrol stations and automotive repair garages: the ESCALE study (SFCE). *Occupational and environmental medicine*, **66**(9), pp. 598-606.

BYRD, J.C., MROZEK, K., DODGE, R.K., CARROLL, A.J., EDWARDS, C.G., ARTHUR, D.C.,

---

PETTENATI, M.J., PATIL, S.R., RAO, K.W., WATSON, M.S., KODURU, P.R., MOORE, J.O., STONE, R.M., MAYER, R.J., FELDMAN, E.J., DAVEY, F.R., SCHIFFER, C.A., LARSON, R.A., BLOOMFIELD, C.D. and CANCER AND LEUKEMIA GROUP B (CALGB 8461), 2002. Pretreatment cytogenetic abnormalities are predictive of induction success, cumulative incidence of relapse, and overall survival in adult patients with de novo acute myeloid leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B (CALGB 8461). *Blood*, **100**(13), pp. 4325-4336.

CASTAGNETTI, F., TESTONI, N., LUATTI, S., MARZOCCHI, G., MANCINI, M., KERIM, S., GIUGLIANO, E., ALBANO, F., CUNEO, A., ABRUZZESE, E., MARTINO, B., PALANDRI, F., AMABILE, M., IACOBUCCI, I., ALIMENA, G., PANE, F., MARTINELLI, G., SAGLIO, G., BACCARANI, M. and ROSTI, G., 2010. Deletions of the derivative chromosome 9 do not influence the response and the outcome of chronic myeloid leukemia in early chronic phase treated with imatinib mesylate: GIMEMA CML Working Party analysis. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, **28**(16), pp. 2748-2754.

CHAUBEY, R., SAZAWAL, S., DADA, R., MAHAPATRA, M. and SAXENA, R., 2011. Cytogenetic profile of Indian patients with de novo myelodysplastic syndromes. *The Indian journal of medical research*, **134**, pp. 452-457.

CHEN, B., ZHAO, W.L., JIN, J., XUE, Y.Q., CHENG, X., CHEN, X.T., CUI, J., CHEN, Z.M., CAO, Q., YANG, G., YAO, Y., XIA, H.L., TONG, J.H., LI, J.M., CHEN, J., XIONG, S.M., SHEN, Z.X., WAXMAN, S., CHEN, Z. and CHEN, S.J., 2005. Clinical and cytogenetic features of 508 Chinese patients with myelodysplastic syndrome and comparison with those in Western countries. *Leukemia : official journal of the Leukemia Society of America, Leukemia Research Fund, U.K.*, **19**(5), pp. 767-775.

CHENG, Y., WANG, Y., WANG, H., CHEN, Z., LOU, J., XU, H., WANG, H., QIAN, W., MENG, H., LIN, M. and JIN, J., 2009. Cytogenetic profile of de novo acute myeloid leukemia: a study based on 1432 patients in a single institution of China. *Leukemia : official journal of the Leukemia Society of America, Leukemia Research Fund, U.K.*, **23**(10), pp. 1801-1806.

CICCONE, G., MIRABELLI, D., LEVIS, A., GAVAROTTI, P., REGE-CAMBRIN, G., DAVICO, L. and VINEIS, P., 1993. Myeloid leukemias and myelodysplastic syndromes: chemical exposure, histologic subtype and cytogenetics in a case-control study. *Cancer genetics and cytogenetics*, **68**(2), pp. 135-139.

CLAPP, R.W., JACOBS, M.M. and LOECHLER, E.L., 2008. Environmental and occupational causes of cancer: new evidence 2005-2007. *Reviews on environmental health*, **23**(1), pp. 1-37.

COOK, M.B., DAWSEY, S.M., FREEDMAN, N.D., INSKIP, P.D., WICHNER, S.M., QURAIISHI, S.M., DEVESA, S.S. and MCGLYNN, K.A., 2009. Sex disparities in cancer incidence by period and age. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, **18**(4), pp. 1174-1182.

COOKE, R., LAING, S. and SWERDLOW, A.J., 2010. A case-control study of risk of leukaemia in relation to mobile phone use. *British journal of cancer*, **103**(11), pp. 1729-1735.

COOPER, G.S., KAMEL, F., SANDLER, D.P., DAVEY, F.R. and BLOOMFIELD, C.D., 1996. Risk of

---

adult acute leukemia in relation to prior immune-related conditions. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, **5**(11), pp. 867-872.

CORSO, A., LAZZARINO, M., MORRA, E., MERANTE, S., ASTORI, C., BERNASCONI, P., BONI, M. and BERNASCONI, C., 1995. Chronic myelogenous leukemia and exposure to ionizing radiation--a retrospective study of 443 patients. *Annals of Hematology*, **70**(2), pp. 79-82.

COSTAS, L., CASABONNE, D., BENAVENTE, Y., BECKER, N., BOFFETTA, P., BRENNAN, P., COCCO, P., FORETOVA, L., MAYNADIE, M., STAINES, A., KANE, E., NIETERS, A. and DE SANJOSE, S., 2012. Reproductive factors and lymphoid neoplasms in Europe: findings from the EpiLymph case-control study. *Cancer causes & control : CCC*, **23**(1), pp. 195-206.

DAHABREH, I.J., GIANNOULI, S., GOTA, V. and VOULGARELIS, M., 2010. GSTT1 and GSTM1 polymorphisms and myelodysplastic syndrome risk: a systematic review and meta-analysis. *International journal of cancer. Journal international du cancer*, **126**(7), pp. 1716-1723.

DAL BO, M., ROSSI, F.M., ROSSI, D., DEAMBROGI, C., BERTONI, F., DEL GIUDICE, I., PALUMBO, G., NANNI, M., RINALDI, A., KWEE, I., TISSINO, E., CORRADINI, G., GOZZETTI, A., CENCINI, E., LADETTO, M., COLETTA, A.M., LUCIANO, F., BULIAN, P., POZZATO, G., LAURENTI, L., FORCONI, F., DI RAIMONDO, F., MARASCA, R., DEL POETA, G., GAIDANO, G., FOA, R., GUARINI, A. and GATTEI, V., 2011. 13q14 Deletion Size and Number of Deleted Cells both Influence Prognosis in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Genes, chromosomes & cancer*, **50**(8), pp. 633-643.

DE MELO, V.A., MILOJKOVIC, D., MARIN, D., APPERLEY, J.F., NACHEVA, E.P. and REID, A.G., 2008. Deletions adjacent to BCR and ABL1 breakpoints occur in a substantial minority of chronic myeloid leukemia patients with masked Philadelphia rearrangements. *Cancer genetics and cytogenetics*, **182**(2), pp. 111-115.

DELGADO, J., ESPINET, B., OLIVEIRA, A.C., ABRISQUETA, P., DE LA SERNA, J., COLLADO, R., LOSCERTALES, J., LOPEZ, M., HERNANDEZ-RIVAS, J.A., FERRA, C., RAMIREZ, A., RONCERO, J.M., LOPEZ, C., AVENTIN, A., PUIGGROS, A., ABELLA, E., CARBONELL, F., COSTA, D., CARRIO, A., GONZALEZ, M., GRUPO ESPANOL DE LEUCEMIA LINFATICA CRONICA and GRUPO ESPANOL DE CITOGENETICA HEMATOLOGICA, 2012. Chronic lymphocytic leukaemia with 17p deletion: a retrospective analysis of prognostic factors and therapy results. *British journal of haematology*, **157**(1), pp. 67-74.

DESCATHA, A., JENABIAN, A., CONSO, F. and AMEILLE, J., 2005. Occupational exposures and haematological malignancies: overview on human recent data. *Cancer causes & control : CCC*, **16**(8), pp. 939-953.

DOHNER, H., FISCHER, K., BENTZ, M., HANSEN, K., BENNER, A., CABOT, G., DIEHL, D., SCHLENK, R., COY, J. and STILGENBAUER, S., 1995. p53 gene deletion predicts for poor survival and non-response to therapy with purine analogs in chronic B-cell leukemias. *Blood*, **85**(6), pp. 1580-1589.

DOHNER, H., STILGENBAUER, S., BENNER, A., LEUPOLT, E., KROBER, A., BULLINGER, L., DOHNER, K., BENTZ, M. and LICHTER, P., 2000. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *The New England journal of medicine*, **343**(26), pp. 1910-1916.

---

DOHNER, H., STILGENBAUER, S., DOHNER, K., BENTZ, M. and LICHTER, P., 1999. Chromosome aberrations in B-cell chronic lymphocytic leukemia: reassessment based on molecular cytogenetic analysis. *Journal of Molecular Medicine (Berlin, Germany)*, **77**(2), pp. 266-281.

DÖHNER, H., STILGENBAUER, S., JAMES, M.R., BENNER, A., WEILGUNI, T., BENTZ, M., FISCHER, K., HUNSTEIN, W. and LICHTER, P., 1997. 11q Deletions Identify a New Subset of B-Cell Chronic Lymphocytic Leukemia Characterized by Extensive Nodal Involvement and Inferior Prognosis. *Blood*, **89**(7), pp. 2516-2522.

DU, Y., FRYZEK, J., SEKERES, M.A. and TAIOLI, E., 2010. Smoking and alcohol intake as risk factors for myelodysplastic syndromes (MDS). *Leukemia research*, **34**(1), pp. 1-5.

DURAK, B., AKAY, O.M., ASLAN, V., OZDEMIR, M., SAHIN, F., ARTAN, S. and GULBAS, Z., 2009. Prognostic impact of chromosome alterations detected by FISH in Turkish patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Cancer genetics and cytogenetics*, **188**(2), pp. 65-69.

ENJETI, A.K., TIEN, S.L. and SIVASWAREN, C.R., 2004. Cytogenetic abnormalities in de novo acute myeloid leukemia in adults: relation to morphology, age, sex and ethnicity - a single center study from Singapore. *The hematology journal : the official journal of the European Haematology Association / EHA*, **5**(5), pp. 419-425.

FABARIUS, A., LEITNER, A., HOCHHAUS, A., MULLER, M.C., HANFSTEIN, B., HAFERLACH, C., GOHRING, G., SCHLEGELBERGER, B., JOTTERAND, M., REITER, A., JUNG-MUNKWITZ, S., PROETEL, U., SCHWAAB, J., HOFMANN, W.K., SCHUBERT, J., EINSELE, H., HO, A.D., FALGE, C., KANZ, L., NEUBAUER, A., KNEBA, M., STEGELMANN, F., PFREUNDSCHUH, M., WALLER, C.F., SPIEKERMANN, K., BAERLOCHER, G.M., LAUSEKER, M., PFIRRMANN, M., HASFORD, J., SAUSSELE, S., HEHLMANN, R. and SCHWEIZERISCHE ARBEITSGEMEINSCHAFT FUR KLINISCHE KREBSFORSCHUNG (SAKK) AND THE GERMAN CML STUDY GROUP, 2011. Impact of additional cytogenetic aberrations at diagnosis on prognosis of CML: long-term observation of 1151 patients from the randomized CML Study IV. *Blood*, **118**(26), pp. 6760-6768.

FERLAY, J., PARKIN, D.M. and STELIAROVA-FOUCHER, E., 2010. Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 2008. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*, **46**(4), pp. 765-781.

FIEGL, M., ERDEL, M., TINHOFER, I., BRYCHTOVA, Y., PANOVSKA, A., DOUBEK, M., EIGENBERGER, K., FONATSCH, C., HOPFINGER, G., MUHLBERGER, H., ZABERNIGG, A., FALKNER, F., GASTL, G., MAYER, J., GREIL, R. and AUSTRIAN COLLABORATIVE STUDY GROUP ON ALEMTUZUMAB IN CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA, IN COOPERATION WITH THE CZECH LEUKEMIA STUDY GROUP FOR LIFE, CELL, 2010. Clinical outcome of pretreated B-cell chronic lymphocytic leukemia following alemtuzumab therapy: a retrospective study on various cytogenetic risk categories. *Annals of Oncology : Official Journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*, **21**(12), pp. 2410-2419.

FORESTIER, E., JOHANSSON, B., BORGSTROM, G., KERNDROP, G., JOHANSSON, J. and HEIM, S., 2000. Cytogenetic findings in a population-based series of 787 childhood acute lymphoblastic leukemias from the Nordic countries. The NOPHO Leukemia Cytogenetic Study Group. *European journal of haematology*, **64**(3), pp. 194-200.

FROHLING, S. and DOHNER, H., 2008. Chromosomal abnormalities in cancer. *The New*

---

*England journal of medicine*, **359**(7), pp. 722-734.

GEISLER, C.H., PHILIP, P., CHRISTENSEN, B.E., HOU-JENSEN, K., PEDERSEN, N.T., JENSEN, O.M., THORLING, K., ANDERSEN, E., BIRGENS, H.S., DRIVSHOLM, A., ELLEGAARD, J., LARSEN, J.K., PLESNER, T., BROWN, P., ANDERSEN, P.K. and HANSEN, M.M., 1997. In B-cell chronic lymphocytic leukaemia chromosome 17 abnormalities and not trisomy 12 are the single most important cytogenetic abnormalities for the prognosis: a cytogenetic and immunophenotypic study of 480 unselected newly diagnosed patients. *Leukemia research*, **21**(11-12), pp. 1011-1023.

GEYER, S.M., MORTON, L.M., HABERMANN, T.M., ALLMER, C., DAVIS, S., COZEN, W., SEVERSON, R.K., LYNCH, C.F., WANG, S.S., MAURER, M.J., HARTGE, P. and CERHAN, J.R., 2010. Smoking, alcohol use, obesity, and overall survival from non-Hodgkin lymphoma: a population-based study. *Cancer*, **116**(12), pp. 2993-3000.

GIERTLOVA, M., HAJIKOVA, M., VASKOVA, J., KAFKOVA, A., STECOVA, N., MIROSSAY, L., KARABINOS, A., TOTHOVA, E. and SARISSKY, M., 2011. Cytogenetic abnormalities predict treatment-free interval and response to therapy in previously untreated chronic lymphocytic leukemia patients. *Neoplasma*, **58**(1), pp. 82-88.

GLADSTONE, D.E., BLACKFORD, A., CHO, E., SWINNEN, L., KASAMON, Y., GOCKE, C.D., GRIFFIN, C.A., BOLANOS-MEADE, J. and JONES, R.J., 2012. The importance of IGHV mutational status in del(11q) and del(17p) chronic lymphocytic leukemia. *Clinical lymphoma, myeloma & leukemia*, **12**(2), pp. 132-137.

GMIDENE, A., SENNANA, H., WAHCHI, I., YOUSSEF, Y.B., JEDDI, R., ELLOUMI, M. and SAAD, A., 2012. Cytogenetic profile of a large cohort of Tunisian de novo acute myeloid leukemia. *Hematology (Amsterdam, Netherlands)*, **17**(1), pp. 9-14.

GOLDIN, L.R., KRISTINSSON, S.Y., LIANG, X.S., DEROLF, A.R., LANDGREN, O. and BJORKHOLM, M., 2012. Familial aggregation of acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, **30**(2), pp. 179-183.

GORINI, G., STAGNARO, E., FONTANA, V., MILIGI, L., RAMAZZOTTI, V., NANNI, O., RODELLA, S., TUMINO, R., CROSIGNANI, P., VINDIGNI, C., FONTANA, A., VINEIS, P. and COSTANTINI, A.S., 2007. Alcohol consumption and risk of leukemia: A multicenter case-control study. *Leukemia research*, **31**(3), pp. 379-386.

GREENBERG, P., COX, C., LEBEAU, M.M., FENAUX, P., MOREL, P., SANZ, G., SANZ, M., VALLESPI, T., HAMBLIN, T., OSCIER, D., OHYASHIKI, K., TOYAMA, K., AUL, C., MUFTI, G. and BENNETT, J., 1997. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood*, **89**(6), pp. 2079-2088.

GREENBERG, P.L., TUECHLER, H., SCHANZ, J., SANZ, G., GARCIA-MANERO, G., SOLE, F., BENNETT, J.M., BOWEN, D., FENAUX, P., DREYFUS, F., KANTARJIAN, H., KUENDGEN, A., LEVIS, A., MALCOVATI, L., CAZZOLA, M., CERMAK, J., FONATSCH, C., LE BEAU, M.M., SLOVAK, M.L., KRIEGER, O., LUEBBERT, M., MACIEJEWSKI, J., MAGALHAES, S.M., MIYAZAKI, Y., PFEILSTOCKER, M., SEKERES, M., SPERR, W.R., STAUDER, R., TAURO, S., VALENT, P., VALLESPI, T., VAN DE LOOSDRECHT, A.A., GERMING, U. and HAASE, D., 2012. Revised international prognostic scoring system for myelodysplastic syndromes. *Blood*, **120**(12), pp.

---

2454-2465.

GRIMWADE, D., HILLS, R.K., MOORMAN, A.V., WALKER, H., CHATTERS, S., GOLDSTONE, A.H., WHEATLEY, K., HARRISON, C.J., BURNETT, A.K. and NATIONAL CANCER RESEARCH INSTITUTE ADULT LEUKAEMIA WORKING GROUP, 2010. Refinement of cytogenetic classification in acute myeloid leukemia: determination of prognostic significance of rare recurring chromosomal abnormalities among 5876 younger adult patients treated in the United Kingdom Medical Research Council trials. *Blood*, **116**(3), pp. 354-365.

HAASE, D., GERMING, U., SCHANZ, J., PFEILSTOCKER, M., NOSSLINGER, T., HILDEBRANDT, B., KUNDGEN, A., LUBBERT, M., KUNZMANN, R., GIAGOUNIDIS, A.A., AUL, C., TRUMPER, L., KRIEGER, O., STAUDER, R., MULLER, T.H., WIMAZAL, F., VALENT, P., FONATSCH, C. and STEIDL, C., 2007. New insights into the prognostic impact of the karyotype in MDS and correlation with subtypes: evidence from a core dataset of 2124 patients. *Blood*, **110**(13), pp. 4385-4395.

HAFERLACH, C., DICKER, F., SCHNITTGER, S., KERN, W. and HAFERLACH, T., 2007. Comprehensive genetic characterization of CLL: a study on 506 cases analysed with chromosome banding analysis, interphase FISH, IgV(H) status and immunophenotyping. *Leukemia : official journal of the Leukemia Society of America, Leukemia Research Fund, U.K.*, **21**(12), pp. 2442-2451.

HAFERLACH, T., KERN, W., SCHOCH, C., SCHNITTGER, S., SAUERLAND, M.C., HEINECKE, A., BUCHNER, T., HIDDEMANN, W. and GERMAN AML COOPERATIVE GROUP, 2004. A new prognostic score for patients with acute myeloid leukemia based on cytogenetics and early blast clearance in trials of the German AML Cooperative Group. *Haematologica*, **89**(4), pp. 408-418.

HERENS, C., TASSIN, F., LEMAIRE, V., BEGUIN, Y., COLLARD, E., LAMPERTZ, S., CROISIAU, C., LECOMTE, M., DE PRIJK, B., LONGREE, L. and KOULISCHER, L., 2000. Deletion of the 5'-ABL region: a recurrent anomaly detected by fluorescence in situ hybridization in about 10% of Philadelphia-positive chronic myeloid leukaemia patients. *British journal of haematology*, **110**(1), pp. 214-216.

HERNANDEZ, J.M., GRANADA, I., SOLE, F. and EN REPRESENTACION DEL GRUPO COOPERATIVO ESPANOL DE CITOGENETICA HEMATOLOGICA, 2011. From conventional cytogenetics to microarrays. Fifty years of Philadelphia chromosome. *Medicina clinica*, **137**(5), pp. 221-229.

HEYN, H., MORAN, S., HERNANDO-HERRAEZ, I., SAYOLS, S., GOMEZ, A., SANDOVAL, J., MONK, D., HATA, K., MARQUES-BONET, T., WANG, L. and ESTELLER, M., 2013. DNA methylation contributes to natural human variation. *Genome research*, **23**(9), pp. 1363-1372.

HJALMAR, V., KIMBY, E., MATUTES, E., SUNDSTROM, C., JACOBSSON, B., ARVIDSSON, I. and HAST, R., 1998. Trisomy 12 and lymphoplasmacytoid lymphocytes in chronic leukemic B-cell disorders. *Haematologica*, **83**(7), pp. 602-609.

HUNTLY, B.J., BENCH, A.J., DELABESSE, E., REID, A.G., LI, J., SCOTT, M.A., CAMPBELL, L., BYRNE, J., PINTO, E., BRIZARD, A., NIEDERMEISER, D., NACHEVA, E.P., GUILHOT, F., DEININGER, M. and GREEN, A.R., 2002. Derivative chromosome 9 deletions in chronic

---

myeloid leukemia: poor prognosis is not associated with loss of ABL-BCR expression, elevated BCR-ABL levels, or karyotypic instability. *Blood*, **99**(12), pp. 4547-4553.

HUNTLY, B.J., REID, A.G., BENCH, A.J., CAMPBELL, L.J., TELFORD, N., SHEPHERD, P., SZER, J., PRINCE, H.M., TURNER, P., GRACE, C., NACHEVA, E.P. and GREEN, A.R., 2001. Deletions of the derivative chromosome 9 occur at the time of the Philadelphia translocation and provide a powerful and independent prognostic indicator in chronic myeloid leukemia. *Blood*, **98**(6), pp. 1732-1738.

IRONS, R.D., LV, L., GROSS, S.A., YE, X., BAO, L., WANG, X.Q., RYDER, J., ARMSTRONG, T.W., ZHOU, Y., MIAO, L., LE, A.T., KERZIC, P.J., NI, W. and FU, H., 2005. Chronic exposure to benzene results in a unique form of dysplasia. *Leukemia research*, **29**(12), pp. 1371-1380.

JACKSON, S.P., 2002. Sensing and repairing DNA double-strand breaks. *Carcinogenesis*, **23**(5), pp. 687-696.

JAFFE, E.S., INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER and ORGANIZACIÓ MUNDIAL DE LA SALUT, 2001. *Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues*. Lyon: IARC Press : WHO : OMS.

JAIN, P.P., PARIHAR, M., AHMED, R., ABRAHAM, A., VISHWABANDYA, A., GEORGE, B., MATHEWS, V., SRIVASTAVA, A. and SRIVASTAVA, V.M., 2012. Fluorescence in situ hybridization patterns of BCR/ABL1 fusion in chronic myelogenous leukemia at diagnosis. *Indian journal of pathology & microbiology*, **55**(3), pp. 347-351.

KAMADA, N., 2001. Radiation-related CML. *Nippon rinsho. Japanese journal of clinical medicine*, **59**(12), pp. 2329-2335.

KAYSER, S., DOHNER, K., KRAUTER, J., KOHNE, C.H., HORST, H.A., HELD, G., VON LILIENFELD-TOAL, M., WILHELM, S., KUNDGEN, A., GOTZE, K., RUMMEL, M., NACHBAUR, D., SCHLEGELBERGER, B., GOHRING, G., SPATH, D., MORLOK, C., ZUCKNICK, M., GANSER, A., DOHNER, H., SCHLENK, R.F. and GERMAN-AUSTRIAN AMLSG, 2011. The impact of therapy-related acute myeloid leukemia (AML) on outcome in 2853 adult patients with newly diagnosed AML. *Blood*, **117**(7), pp. 2137-2145.

KAYSER, S., ZUCKNICK, M., DOHNER, K., KRAUTER, J., KOHNE, C.H., HORST, H.A., HELD, G., VON LILIENFELD-TOAL, M., WILHELM, S., RUMMEL, M., GERMING, U., GOTZE, K., NACHBAUR, D., SCHLEGELBERGER, B., GOHRING, G., SPATH, D., MORLOK, C., TELEANU, V., GANSER, A., DOHNER, H., SCHLENK, R.F. and GERMAN-AUSTRIAN AML STUDY GROUP, 2012. Monosomal karyotype in adult acute myeloid leukemia: prognostic impact and outcome after different treatment strategies. *Blood*, **119**(2), pp. 551-558.

KEEGAN, T.J., BUNCH, K.J., VINCENT, T.J., KING, J.C., O'NEILL, K.A., KENDALL, G.M., MACCARTHY, A., FEAR, N.T. and MURPHY, M.F., 2012. Case-control study of paternal occupation and childhood leukaemia in Great Britain, 1962-2006. *British journal of cancer*, **107**(9), pp. 1652-1659.

KIKUSHIGE, Y., ISHIKAWA, F., MIYAMOTO, T., SHIMA, T., URATA, S., YOSHIMOTO, G., MORI, Y., IINO, T., YAMAUCHI, T., ETO, T., NIIRO, H., IWASAKI, H., TAKENAKA, K. and AKASHI, K., 2011. Self-renewing hematopoietic stem cell is the primary target in pathogenesis of human

---

chronic lymphocytic leukemia. *Cancer cell*, **20**(2), pp. 246-259.

KIM, D.H., POPRADI, G., SRIHARSHA, L., KAMEL-REID, S., CHANG, H., MESSNER, H.A. and LIPTON, J.H., 2008. No significance of derivative chromosome 9 deletion on the clearance kinetics of BCR/ABL fusion transcripts, cytogenetic or molecular response, loss of response, or treatment failure to imatinib mesylate therapy for chronic myeloid leukemia. *Cancer*, **113**(4), pp. 772-781.

KO, B.S., TANG, J.L., LEE, F.Y., LIU, M.C., TSAI, W., CHEN, Y.C., WANG, C.H., SHENG, M.C., LIN, D.T., LIN, K.H. and TIEN, H.F., 2002. Additional chromosomal abnormalities and variability of BCR breakpoints in Philadelphia chromosome/BCR-ABL-positive acute lymphoblastic leukemia in Taiwan. *American Journal of Hematology*, **71**(4), pp. 291-299.

KOLOMIETZ, E., AL-MAGHRABI, J., BRENNAN, S., KARASKOVA, J., MINKIN, S., LIPTON, J. and SQUIRE, J.A., 2001. Primary chromosomal rearrangements of leukemia are frequently accompanied by extensive submicroscopic deletions and may lead to altered prognosis. *Blood*, **97**(11), pp. 3581-3588.

KRITIKOU-GRIVA, E., SPYROPOULOU-VLACHOU, M., TSAGARAKIS, N.J., GOUMAKOU, E., VRANI, V., GALANOPOULOS, A., PAPADHIMITRIOU, S.I., ANDROUTSOS, G., PATERAKIS, G. and STAVROPOULOS-GIOKAS, C., 2012. High frequency of human leukocyte antigen class II DRB1\*1602 haplotype in Greek patients with myelodysplastic syndrome and of DRB1\*1501 in the low-risk subgroup. *Human immunology*, **73**(3), pp. 278-281.

KUENDGEN, A., MATSUDA, A. and GERMING, U., 2007. Differences in epidemiology of MDS between Western and Eastern countries: Ethnic differences or environmental influence? *Leukemia research*, **31**(1), pp. 103-104.

LAI, Y.Y. and HUANG, X.J., 2011. Cytogenetic characteristics of B cell chronic lymphocytic leukemia in 275 Chinese patients by fluorescence in situ hybridization: a multicenter study. *Chinese medical journal*, **124**(16), pp. 2417-2422.

LANDGREN, O., GRIDLEY, G., CHECK, D., CAPORASO, N.E. and MORRIS BROWN, L., 2007. Acquired immune-related and inflammatory conditions and subsequent chronic lymphocytic leukaemia. *British journal of haematology*, **139**(5), pp. 791-798.

LEE, H.R., OH, B., HONG, D.S., ZANG, D.Y., YOON, H.J., KIM, H.J., KIM, I., AHN, J.S., CHEONG, J.W., LEE, K.A., CHO, K.S., LEE, M.H., BANG, S.M., KIM, T.Y., YUN, Y.M., MIN, Y.H., LEE, Y.K., LEE, D.S. and AML/MDS WORKING PARTY OF THE KOREAN SOCIETY OF HEMATOLOGY, 2010. Cytogenetic features of 5q deletion and 5q- syndrome in myelodysplastic syndrome in Korea; marker chromosomes proved to be chromosome 5 with interstitial deletion by fluorescence in situ hybridization. *Cancer genetics and cytogenetics*, **203**(2), pp. 193-202.

LIM, T.H., TIEN, S.L., LIM, P. and LIM, A.S., 2005. The incidence and patterns of BCR/ABL rearrangements in chronic myeloid leukaemia (CML) using fluorescence in situ hybridisation (FISH). *Annals of the Academy of Medicine, Singapore*, **34**(9), pp. 533-538.

LO-COCO, F., CUNEO, A., PANE, F., CILLONI, D., DIVERIO, D., MANCINI, M., TESTONI, N., BARDI, A., IZZO, B., BOLLI, N., LA STARZA, R., FAZI, P., IACOBELLI, S., PICIOCCHI, A., VIGNETTI, M., AMADORI, S., MANDELLI, F., PELICCI, P.G., MECUCCI, C., FALINI, B., SAGLIO, G. and ACUTE LEUKEMIA WORKING PARTY OF THE GIMEMA GROUP, 2008. Prognostic impact of



genetic characterization in the GIMEMA LAM99P multicenter study for newly diagnosed acute myeloid leukemia. *Haematologica*, **93**(7), pp. 1017-1024.

LUATTI, S., CASTAGNETTI, F., MARZOCCHI, G., BALDAZZI, C., GUGLIOTTA, G., IACOBUCCI, I., SPECCHIA, G., ZANATTA, L., REGE-CAMBRIN, G., MANCINI, M., ABRUZZESE, E., ZACCARIA, A., GRIMOLDI, M.G., GOZZETTI, A., AMELI, G., CAPUCCI, M.A., PALKA, G., BERNASCONI, P., PALANDRI, F., PANE, F., SAGLIO, G., MARTINELLI, G., ROSTI, G., BACCARANI, M., TESTONI, N. and GRUPPO ITALIANO MALATTIE EMATOLOGICHE DELL'ADULTO (GIMEMA) WORKING PARTY ON CML, 2012. Additional chromosomal abnormalities in Philadelphia-positive clone: adverse prognostic influence on frontline imatinib therapy: a GIMEMA Working Party on CML analysis. *Blood*, **120**(4), pp. 761-767.

LV, L., LIN, G., GAO, X., WU, C., DAI, J., YANG, Y., ZOU, H., SUN, H., GU, M., CHEN, X., FU, H. and BAO, L., 2011. Case-control study of risk factors of myelodysplastic syndromes according to World Health Organization classification in a Chinese population. *American Journal of Hematology*, **86**(2), pp. 163-169.

MA, X., DOES, M., RAZA, A. and MAYNE, S.T., 2007. Myelodysplastic syndromes: incidence and survival in the United States. *Cancer*, **109**(8), pp. 1536-1542.

MANCINI, M., SCAPPATICCI, D., CIMINO, G., NANNI, M., DERME, V., ELIA, L., TAFURI, A., VIGNETTI, M., VITALE, A., CUNEO, A., CASTOLDI, G., SAGLIO, G., PANE, F., MECUCCI, C., CAMERA, A., SPECCHIA, G., TEDESCHI, A., DI RAIMONDO, F., FIORITONI, G., FABBIANO, F., MARMONT, F., FERRARA, F., CASCAVILLA, N., TODESCHINI, G., NOBILE, F., KROPP, M.G., LEONI, P., TABILIO, A., LUPPI, M., ANNINO, L., MANDELLI, F. and FOA, R., 2005. A comprehensive genetic classification of adult acute lymphoblastic leukemia (ALL): analysis of the GIMEMA 0496 protocol. *Blood*, **105**(9), pp. 3434-3441.

MARCOS-GRAGERA, R., VILARDELL, L., IZQUIERDO, A., MASUET, C., GARDELLA, S., BERNADO, L., SANJOSE, S. and MORENO, V., 2006. Population-based incidence of lymphoid neoplasms by histological subtypes in Girona (Spain), 1994-2001. *Medicina clinica*, **126**(1), pp. 5-12.

MARZOCCHI, G., CASTAGNETTI, F., LUATTI, S., BALDAZZI, C., STACCHINI, M., GUGLIOTTA, G., AMABILE, M., SPECCHIA, G., SESSAREGO, M., GIUSSANI, U., VALORI, L., DISCEPOLI, G., MONTALDI, A., SANTORO, A., BONALDI, L., GIUDICI, G., CIANCIULLI, A.M., GIACOBBI, F., PALANDRI, F., PANE, F., SAGLIO, G., MARTINELLI, G., BACCARANI, M., ROSTI, G., TESTONI, N. and GRUPPO ITALIANO MALATTIE EMATOLOGICHE DELL'ADULTO (GIMEMA) WORKING PARTY ON CHRONIC MYELOID LEUKEMIA, 2011. Variant Philadelphia translocations: molecular-cytogenetic characterization and prognostic influence on frontline imatinib therapy, a GIMEMA Working Party on CML analysis. *Blood*, **117**(25), pp. 6793-6800.

MATASAR, M.J., RITCHIE, E.K., CONSEDINE, N., MAGAI, C. and NEUGUT, A.I., 2006. Incidence rates of the major leukemia subtypes among US Hispanics, Blacks, and non-Hispanic Whites. *Leukemia & lymphoma*, **47**(11), pp. 2365-2370.

MATSUDA, A., GERMING, U., JINNAI, I., ARASEKI, K., KUENDGEN, A., STRUPP, C., IWANAGA, M., MIYAZAKI, Y., HATA, T., BESSHO, M., GATTERMANN, N. and TOMONAGA, M., 2010. Differences in the distribution of subtypes according to the WHO classification 2008 between Japanese and German patients with refractory anemia according to the FAB classification in myelodysplastic syndromes. *Leukemia research*, **34**(8), pp. 974-980.

---

MATSUDA, N., KUMAGAI, A., OHTSURU, A., MORITA, N., MIURA, M., YOSHIDA, M., KUDO, T., TAKAMURA, N. and YAMASHITA, S., 2013. Assessment of internal exposure doses in Fukushima by a whole body counter within one month after the nuclear power plant accident. *Radiation research*, **179**(6), pp. 663-668.

MATTEUCCI, C., BARBA, G., VARASANO, E., VITALE, A., MANCINI, M., TESTONI, N., CUNEO, A., REGE-CAMBRIN, G., ELIA, L., LA STARZA, R., PIERINI, V., BRANDIMARTE, L., VIGNETTI, M., FOA, R., MECUCCI, C. and GIMEMA ACUTE LEUKAEMIA WORKING PARTY, ITALY, 2010. Rescue of genomic information in adult acute lymphoblastic leukaemia (ALL) with normal/failed cytogenetics: a GIMEMA centralized biological study. *British journal of haematology*, **149**(1), pp. 70-78.

MAURITZSON, N., ALBIN, M., RYLANDER, L., BILLSTROM, R., AHLGREN, T., MIKOCZY, Z., BJORK, J., STROMBERG, U., NILSSON, P.G., MITELMAN, F., HAGMAR, L. and JOHANSSON, B., 2002. Pooled analysis of clinical and cytogenetic features in treatment-related and de novo adult acute myeloid leukemia and myelodysplastic syndromes based on a consecutive series of 761 patients analyzed 1976-1993 and on 5098 unselected cases reported in the literature 1974-2001. *Leukemia*, **16**(12), pp. 2366-2378.

MEDEIROS, B.C., OTHUS, M., FANG, M., ROULSTON, D. and APPELBAUM, F.R., 2010. Prognostic impact of monosomal karyotype in young adult and elderly acute myeloid leukemia: the Southwest Oncology Group (SWOG) experience. *Blood*, **116**(13), pp. 2224-2228.

MERHI, M., RAYNAL, H., CAHUZAC, E., VINSON, F., CRAVEDI, J.P. and GAMET-PAYRASTRE, L., 2007. Occupational exposure to pesticides and risk of hematopoietic cancers: meta-analysis of case-control studies. *Cancer causes & control : CCC*, **18**(10), pp. 1209-1226.

METZ-FLAMANT, C., SAMSON, E., CAER-LORHO, S., ACKER, A. and LAURIER, D., 2012. Leukemia risk associated with chronic external exposure to ionizing radiation in a French cohort of nuclear workers. *Radiation research*, **178**(5), pp. 489-498.

MINAMOTO, T., MAI, M. and RONAI, Z., 1999. Environmental factors as regulators and effectors of multistep carcinogenesis. *Carcinogenesis*, **20**(4), pp. 519-527.

MIYAWAKI, S., OHTAKE, S., FUJISAWA, S., KIYOI, H., SHINAGAWA, K., USUI, N., SAKURA, T., MIYAMURA, K., NAKASEKO, C., MIYAZAKI, Y., FUJIEDA, A., NAGAI, T., YAMANE, T., TANIWAKI, M., TAKAHASHI, M., YAGASAKI, F., KIMURA, Y., ASOU, N., SAKAMAKI, H., HANDA, H., HONDA, S., OHNISHI, K., NAOE, T. and OHNO, R., 2011. A randomized comparison of 4 courses of standard-dose multiagent chemotherapy versus 3 courses of high-dose cytarabine alone in postremission therapy for acute myeloid leukemia in adults: the JALSG AML201 Study. *Blood*, **117**(8), pp. 2366-2372.

MOORMAN, A.V., CHILTON, L., WILKINSON, J., ENSOR, H.M., BOWN, N. and PROCTOR, S.J., 2010. A population-based cytogenetic study of adults with acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, **115**(2), pp. 206-214.

MOORMAN, A.V., HARRISON, C.J., BUCK, G.A., RICHARDS, S.M., SECKER-WALKER, L.M., MARTINEAU, M., VANCE, G.H., CHERRY, A.M., HIGGINS, R.R., FIELDING, A.K., FORONI, L., PAIETTA, E., TALLMAN, M.S., LITZOW, M.R., WIERNIK, P.H., ROWE, J.M., GOLDSTONE, A.H., DEWALD, G.W. and ADULT LEUKAEMIA WORKING PARTY, MEDICAL RESEARCH

COUNCIL/NATIONAL CANCER RESEARCH INSTITUTE, 2007. Karyotype is an independent prognostic factor in adult acute lymphoblastic leukemia (ALL): analysis of cytogenetic data from patients treated on the Medical Research Council (MRC) UKALLXII/Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) 2993 trial. *Blood*, **109**(8), pp. 3189-3197.

MORTON, L.M., DORES, G.M., TUCKER, M.A., KIM, C.J., ONEL, K., GILBERT, E.S., FRAUMENI, J.F., Jr and CURTIS, R.E., 2013. Evolving risk of therapy-related acute myeloid leukemia following cancer chemotherapy among adults in the United States, 1975-2008. *Blood*, **121**(15), pp. 2996-3004.

MROZEK, K., MARCUCCI, G., NICOLET, D., MAHARRY, K.S., BECKER, H., WHITMAN, S.P., METZELER, K.H., SCHWIND, S., WU, Y.Z., KOHLSCHMIDT, J., PETTENATI, M.J., HEEREMA, N.A., BLOCK, A.W., PATIL, S.R., BAER, M.R., KOLITZ, J.E., MOORE, J.O., CARROLL, A.J., STONE, R.M., LARSON, R.A. and BLOOMFIELD, C.D., 2012. Prognostic Significance of the European LeukemiaNet Standardized System for Reporting Cytogenetic and Molecular Alterations in Adults With Acute Myeloid Leukemia. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, .

MU, Q., MA, Q., WANG, Y., CHEN, Z., TONG, X., CHEN, F.F., LU, Y. and JIN, J., 2012. Cytogenetic profile of 1,863 Ph/BCR-ABL-positive chronic myelogenous leukemia patients from the Chinese population. *Annals of Hematology*, **91**(7), pp. 1065-1072.

NEUKIRCHEN, J., SCHOONEN, W.M., STRUPP, C., GATTERMANN, N., AUL, C., HAAS, R. and GERMING, U., 2011. Incidence and prevalence of myelodysplastic syndromes: data from the Dusseldorf MDS-registry. *Leukemia research*, **35**(12), pp. 1591-1596.

NI, X., SHEN, Z.X., CHEN, F.Y., LIANG, H., LU, F.J., CHEN, J., WANG, C., SHAO, J.B., HOU, J., ZOU, S.H. and WANG, J.M., 2011. Trend in the incidence and geographic variations of acute lymphoblastic leukemia in Shanghai, China from 2002 to 2006. *Chinese medical journal*, **124**(16), pp. 2406-2410.

OKAMOTO, R., OGAWA, S., NOWAK, D., KAWAMATA, N., AKAGI, T., KATO, M., SANADA, M., WEISS, T., HAFERLACH, C., DUGAS, M., RUCKERT, C., HAFERLACH, T. and KOEFFLER, H.P., 2010. Genomic profiling of adult acute lymphoblastic leukemia by single nucleotide polymorphism oligonucleotide microarray and comparison to pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*, **95**(9), pp. 1481-1488.

OLAH, E., BALOGH, E., KAJTAR, P., PAJOR, L., JAKAB, Z. and KISS, C., 1997. Diagnostic and prognostic significance of chromosome abnormalities in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Annals of the New York Academy of Sciences*, **824**, pp. 8-27.

OLIVEIRA, A.C., DE LA BANDA, E., DOMINGO-DOMENECH, E., ENCUESTRA, M., MERCADAL, S., DOMINGO, A., ALONSO, E., ESPINET, B., GRAU, J., DE SEVILLA, A.F. and GONZALEZ-BARCA, E., 2011. Prospective study of clinical and biological prognostic factors at diagnosis in patients with early stage B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia & lymphoma*, **52**(3), pp. 429-435.

PARODI, S., CROSIGNANI, P., MILIGI, L., NANNI, O., RAMAZZOTTI, V., RODELLA, S., COSTANTINI, A.S., TUMINO, R., VINDIGNI, C., VINEIS, P. and STAGNARO, E., 2013. Childhood infectious diseases and risk of leukaemia in an adult population. *International journal of*

---

*cancer. Journal international du cancer*, **133**(8), pp. 1892-1899.

PESATORI, A.C., CONSONNI, D., RUBAGOTTI, M., GRILLO, P. and BERTAZZI, P.A., 2009. Cancer incidence in the population exposed to dioxin after the "Seveso accident": twenty years of follow-up. *Environmental health : a global access science source*, **8**, pp. 39-069X-8-39.

POBEL, D. and VIEL, J.F., 1997. Case-control study of leukaemia among young people near La Hague nuclear reprocessing plant: the environmental hypothesis revisited. *BMJ (Clinical research ed.)*, **314**(7074), pp. 101-106.

POZDNYAKOVA, O., MIRON, P.M., TANG, G., WALTER, O., RAZA, A., WODA, B. and WANG, S.A., 2008. Cytogenetic abnormalities in a series of 1,029 patients with primary myelodysplastic syndromes: a report from the US with a focus on some undefined single chromosomal abnormalities. *Cancer*, **113**(12), pp. 3331-3340.

PRIMO, D., TABERNERO, M.D., RASILLO, A., SAYAGUES, J.M., ESPINOSA, A.B., CHILLON, M.C., GARCIA-SANZ, R., GUTIERREZ, N., GIRALT, M., HAGEMEIJER, A., SAN MIGUEL, J.F. and ORFAO, A., 2003. Patterns of BCR/ABL gene rearrangements by interphase fluorescence in situ hybridization (FISH) in BCR/ABL+ leukemias: incidence and underlying genetic abnormalities. *Leukemia : official journal of the Leukemia Society of America, Leukemia Research Fund, U.K.*, **17**(6), pp. 1124-1129.

PUKKALA, E., MARTINSEN, J.I., LYNGE, E., GUNNARSDOTTIR, H.K., SPAREN, P., TRYGGVADOTTIR, L., WEIDERPASS, E. and KJAERHEIM, K., 2009. Occupation and cancer - follow-up of 15 million people in five Nordic countries. *Acta Oncologica (Stockholm, Sweden)*, **48**(5), pp. 646-790.

PULLARKAT, V., SLOVAK, M.L., KOPECKY, K.J., FORMAN, S.J. and APPELBAUM, F.R., 2008. Impact of cytogenetics on the outcome of adult acute lymphoblastic leukemia: results of Southwest Oncology Group 9400 study. *Blood*, **111**(5), pp. 2563-2572.

QIU, H.X., XU, W., CAO, X.S., ZHOU, M., SHEN, Y.F., XU, Y.L., SUN, X.M., LIU, Q., WANG, R., QIU, H.R., WANG, J.S. and LI, J.Y., 2008. Cytogenetic characterisation in Chinese patients with chronic lymphocytic leukemia: a prospective, multicenter study on 143 cases analysed with interphase fluorescence in situ hybridisation. *Leukemia & lymphoma*, **49**(10), pp. 1887-1892.

QU, S., XU, Z., ZHANG, Y., QIN, T., ZHANG, T., CUI, R. and XIAO, Z., 2012. Impacts of cytogenetic categories in the Revised International Prognostic Scoring System on the prognosis of primary myelodysplastic syndromes: results of a single-center study. *Leukemia & lymphoma*, **53**(5), pp. 940-946.

QUINTAS-CARDAMA, A., KANTARJIAN, H., SHAN, J., JABBOUR, E., ABRUZZO, L.V., VERSTOVSEK, S., GARCIA-MANERO, G., O'BRIEN, S. and CORTES, J., 2011. Prognostic impact of deletions of derivative chromosome 9 in patients with chronic myelogenous leukemia treated with nilotinib or dasatinib. *Cancer*, **117**(22), pp. 5085-5093.

RIBERA, J.M., GARCIA, O., FERNANDEZ-ABELLAN, P., LAVILLA, E., BERNAL, M.T., GONZALEZ-CAMPOS, J., BRUNET, S., MONTESERIN, M.C., MONTESINOS, P., SARRA, J., CALBACHO, M., ALVAREZ-LARRAN, A., TORMO, M., ORIOL, A. and PETHEMA GROUP, 2012. Lack of negative impact of Philadelphia chromosome in older patients with acute lymphoblastic leukaemia in the tyrosine kinase inhibitor era: comparison of two prospective parallel protocols. *British*

*journal of haematology*, **159**(4), pp. 485-488.

RIBERA, J.M., ORTEGA, J.J., ORIOL, A., GRANADA, I., HERNANDEZ-RIVAS, J.M., PARODY, R., BETHENCOURT, C., RIVAS, C., BASTIDA, P., DEL POTRO, E., GONZALEZ-VALENTIN, M.E., MORENO, M.J., BESALDUCH, J., FERNANDEZ-CALVO, J., TORMO, M., ARIAS, J., MOLINES, A., SANZ, M.A., MALDONADO, J., MILLA, F., FELIU, E., SAN MIGUEL, J.F. and PETHEMA GROUP, SPANISH SOCIETY OF HEMATOLOGY, 2002. Prognostic value of karyotypic analysis in children and adults with high-risk acute lymphoblastic leukemia included in the PETHEMA ALL-93 trial. *Haematologica*, **87**(2), pp. 154-166.

RIEDER, H., LUDWIG, W.D., GASSMANN, W., MAURER, J., JANSSEN, J.W., GOKBUGET, N., SCHWARTZ, S., THIEL, E., LOFFLER, H., BARTRAM, C.R., HOELZER, D. and FONATSCH, C., 1996. Prognostic significance of additional chromosome abnormalities in adult patients with Philadelphia chromosome positive acute lymphoblastic leukaemia. *British journal of haematology*, **95**(4), pp. 678-691.

ROSS, M.E., ZHOU, X., SONG, G., SHURTLEFF, S.A., GIRTMAN, K., WILLIAMS, W.K., LIU, H.C., MAHFOUZ, R., RAIMONDI, S.C., LENNY, N., PATEL, A. and DOWNING, J.R., 2003. Classification of pediatric acute lymphoblastic leukemia by gene expression profiling. *Blood*, **102**(8), pp. 2951-2959.

RUCHLEMER, R. and POLLIACK, A., 2013. Geography, ethnicity and "roots" in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia & lymphoma*, **54**(6), pp. 1142-1150.

RUDANT, J., CLAVEL, J. and INFANTE-RIVARD, C., 2010. Selection bias in case-control studies on household exposure to pesticides and childhood acute leukemia. *Journal of exposure science & environmental epidemiology*, **20**(4), pp. 299-309.

RUDANT, J., MENEGAUX, F., LEVERGER, G., BARUCHEL, A., LAMBILLIOTTE, A., BERTRAND, Y., PATTE, C., PACQUEMENT, H., VERITE, C., ROBERT, A., MICHEL, G., MARGUERITE, G., GANDEMER, V., HEMON, D. and CLAVEL, J., 2008. Childhood hematopoietic malignancies and parental use of tobacco and alcohol: the ESCALE study (SFCE). *Cancer causes & control : CCC*, **19**(10), pp. 1277-1290.

SABERI HOSNIJEH, F., CHRISTOPHER, Y., PEETERS, P., ROMIEU, I., XUN, W., RIBOLI, E., RAASCHOU-NIELSEN, O., TJONNELAND, A., BECKER, N., NIETERS, A., TRICHOPOULOU, A., BAMIA, C., ORFANOS, P., ODDONE, E., LUJAN-BARROSO, L., DORRONSORO, M., NAVARRO, C., BARRICARTE, A., MOLINA-MONTES, E., WAREHAM, N., VINEIS, P. and VERMEULEN, R., 2013. Occupation and risk of lymphoid and myeloid leukaemia in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Occupational and environmental medicine*, **70**(7), pp. 464-470.

SANT, M., ALLEMANI, C., TEREANU, C., DE ANGELIS, R., CAPOCACCIA, R., VISSER, O., MARCOS-GRAGERA, R., MAYNADIE, M., SIMONETTI, A., LUTZ, J.M., BERRINO, F. and HAEMACARE WORKING GROUP, 2010. Incidence of hematologic malignancies in Europe by morphologic subtype: results of the HAEMACARE project. *Blood*, **116**(19), pp. 3724-3734.

SCHANZ, J., STEIDL, C., FONATSCH, C., PFEILSTOCKER, M., NOSSLINGER, T., TUECHLER, H., VALENT, P., HILDEBRANDT, B., GIAGOUNIDIS, A., AUL, C., LUBBERT, M., STAUDER, R., KRIEGER, O., GARCIA-MANERO, G., KANTARJIAN, H., GERMING, U., HAASE, D. and ESTEY, E., 2011. Coalesced multicentric analysis of 2,351 patients with myelodysplastic syndromes

---

indicates an underestimation of poor-risk cytogenetics of myelodysplastic syndromes in the international prognostic scoring system. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, **29**(15), pp. 1963-1970.

SCHANZ, J., TUCHLER, H., SOLE, F., MALLO, M., LUNO, E., CERVERA, J., GRANADA, I., HILDEBRANDT, B., SLOVAK, M.L., OHYASHIKI, K., STEIDL, C., FONATSCH, C., PFEILSTOCKER, M., NOSSLINGER, T., VALENT, P., GIAGOUNIDIS, A., AUL, C., LUBBERT, M., STAUDER, R., KRIEGER, O., GARCIA-MANERO, G., FADERL, S., PIERCE, S., LE BEAU, M.M., BENNETT, J.M., GREENBERG, P., GERMING, U. and HAASE, D., 2012. New comprehensive cytogenetic scoring system for primary myelodysplastic syndromes (MDS) and oligoblastic acute myeloid leukemia after MDS derived from an international database merge. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, **30**(8), pp. 820-829.

SCHNATTER, A.R., GLASS, D.C., TANG, G., IRONS, R.D. and RUSHTON, L., 2012. Myelodysplastic syndrome and benzene exposure among petroleum workers: an international pooled analysis. *Journal of the National Cancer Institute*, **104**(22), pp. 1724-1737.

SECKER-WALKER, L.M., CRAIG, J.M., HAWKINS, J.M. and HOFFBRAND, A.V., 1991. Philadelphia positive acute lymphoblastic leukemia in adults: age distribution, BCR breakpoint and prognostic significance. *Leukemia : official journal of the Leukemia Society of America, Leukemia Research Fund, U.K.*, **5**(3), pp. 196-199.

SHAFFER, L.G., SLOVAK, M.L. and CAMPBELL, L.L., 2009. *ISCN 2009: An international system for human cytogenetic nomenclature*. Basel: Karger.

SHERBORNE, A.L., HEMMINKI, K., KUMAR, R., BARTRAM, C.R., STANULLA, M., SCHRAPPE, M., PETRIDOU, E., SEMSEI, A.F., SZALAI, C., SINNETT, D., KRAJINOVIC, M., HEALY, J., LANCIOTTI, M., DUFOUR, C., INDACO, S., EL-GHOUROURY, E.A., SAWANGPANICH, R., HONGENG, S., PAKAKASAMA, S., GONZALEZ NEIRA, A., LEAL UGARTE, E., PERALTA LEAL, V., MEZA ESPINOZA, J.P., KAMEL, A.M., RADWAN, E.R., EBID, G.T., YALIN, S., YALIN, E., BERKOZ, M., SIMPSON, J., ROMAN, E., LIGHTFOOT, T., HOSKING, F.J., VIJAYAKRISHNAN, J., GREAVES, M. and HOULSTON, R., 2011. Rationale for an international consortium to study inherited genetic susceptibility to childhood acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*, .

SHIVAKUMAR, R., TAN, W., WILDING, G.E., WANG, E.S. and WETZLER, M., 2008. Biologic features and treatment outcome of secondary acute lymphoblastic leukemia--a review of 101 cases. *Annals of Oncology : Official Journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*, **19**(9), pp. 1634-1638.

SHVIDEL, L., SHTARLID, M., KLEPFISH, A., SIGLER, E. and BERREBI, A., 1998. Epidemiology and ethnic aspects of B cell chronic lymphocytic leukemia in Israel. *Leukemia*, **12**(10), pp. 1612-1617.

SIERRA, M., ALONSO, A., ODERO, M.D., GONZALEZ, M.B., LAHORTIGA, I., PEREZ, J.J., GARCIA, J.L., GUTIERREZ, N.C., CALASANZ, M.J., SAN MIGUEL, J.F. and HERNANDEZ, J.M., 2006. Geographic differences in the incidence of cytogenetic abnormalities of acute myelogenous leukemia (AML) in Spain. *Leukemia research*, **30**(8), pp. 943-948.

SINCLAIR, P.B., NACHEVA, E.P., LEVERSHA, M., TELFORD, N., CHANG, J., REID, A., BENCH, A., CHAMPION, K., HUNTLY, B. and GREEN, A.R., 2000. Large deletions at the t(9;22) breakpoint

---

are common and may identify a poor-prognosis subgroup of patients with chronic myeloid leukemia. *Blood*, **95**(3), pp. 738-743.

SLAGER, S.L., CAPORASO, N.E., DE SANJOSE, S. and GOLDIN, L.R., 2013. Genetic susceptibility to chronic lymphocytic leukemia. *Seminars in hematology*, **50**(4), pp. 296-302.

SLOVAK, M.L., KOPECKY, K.J., CASSILETH, P.A., HARRINGTON, D.H., THEIL, K.S., MOHAMED, A., PAIETTA, E., WILLMAN, C.L., HEAD, D.R., ROWE, J.M., FORMAN, S.J. and APPELBAUM, F.R., 2000. *Karyotypic analysis predicts outcome of preremission and postremission therapy in adult acute myeloid leukemia: a Southwest Oncology Group/Eastern Cooperative Oncology Group study.*

SMONSKY, M.T., BLOCK, A.W., DEEB, G., CHANAN-KHAN, A.A., BERNSTEIN, Z.P., MILLER, K.C., WALLACE, P.K. and STAROSTIK, P., 2012. Monoallelic and biallelic deletions of 13q14.3 in chronic lymphocytic leukemia: FISH vs miRNA RT-qPCR detection. *American Journal of Clinical Pathology*, **137**(4), pp. 641-646.

SO, C.C., WAN, T.S., CHOW, J.L., HUI, K.C., CHOI, W.W., LAM, C.C. and CHAN, L.C., 2011. A single-center cytogenetic study of 629 Chinese patients with de novo acute myeloid leukemia--evidence of major ethnic differences and a high prevalence of acute promyelocytic leukemia in Chinese patients. *Cancer genetics*, **204**(8), pp. 430-438.

SOLE, F., LUNO, E., SANZO, C., ESPINET, B., SANZ, G.F., CERVERA, J., CALASANZ, M.J., CIGUDOSA, J.C., MILLA, F., RIBERA, J.M., BUREO, E., MARQUEZ, M.L., ARRANZ, E. and FLORENSA, L., 2005. Identification of novel cytogenetic markers with prognostic significance in a series of 968 patients with primary myelodysplastic syndromes. *Haematologica*, **90**(9), pp. 1168-1178.

STEFFEN, C., AUCLERC, M.F., AUVRIGNON, A., BARUCHEL, A., KEBAILI, K., LAMBILLIOTTE, A., LEVERGER, G., SOMMELET, D., VILMER, E., HEMON, D. and CLAVEL, J., 2004. Acute childhood leukaemia and environmental exposure to potential sources of benzene and other hydrocarbons; a case-control study. *Occupational and environmental medicine*, **61**(9), pp. 773-778.

STROM, S.S., GU, Y., GRUSCHKUS, S.K., PIERCE, S.A. and ESTEY, E.H., 2005. Risk factors of myelodysplastic syndromes: a case-control study. *Leukemia : official journal of the Leukemia Society of America, Leukemia Research Fund, U.K.*, **19**(11), pp. 1912-1918.

STROM, S.S., OUM, R., ELHOR GBITO, K.Y., GARCIA-MANERO, G. and YAMAMURA, Y., 2012. De novo acute myeloid leukemia risk factors: a Texas case-control study. *Cancer*, **118**(18), pp. 4589-4596.

SWERDLOW, S.H., ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD and ASOCIACIÓN INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN SOBRE EL CANCER, 2008. *WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues.* 4th edn. Lyon: International Agency for Research on Cancer.

TERRY, P.D., SHORE, D.L., RAUSCHER, G.H. and SANDLER, D.P., 2005. Occupation, hobbies, and acute leukemia in adults. *Leukemia research*, **29**(10), pp. 1117-1130.

TOMIZAWA, D., KOH, K., SATO, T., KINUKAWA, N., MORIMOTO, A., ISOYAMA, K., KOSAKA, Y.,

---

ODA, T., ODA, M., HAYASHI, Y., EGUCHI, M., HORIBE, K., NAKAHATA, T., MIZUTANI, S. and ISHII, E., 2007. Outcome of risk-based therapy for infant acute lymphoblastic leukemia with or without an MLL gene rearrangement, with emphasis on late effects: a final report of two consecutive studies, MLL96 and MLL98, of the Japan Infant Leukemia Study Group. *Leukemia : official journal of the Leukemia Society of America, Leukemia Research Fund, U.K.*, **21**(11), pp. 2258-2263.

TSUKASAKI, K., LOHR, D., SUGAHARA, K., KAMIHIRA, S., TOMONAGA, M., BARTRAM, C.R. and JAUCH, A., 2006. Comparative genomic hybridization analysis of Japanese B-cell chronic lymphocytic leukemia: correlation with clinical course. *Leukemia & lymphoma*, **47**(2), pp. 261-266.

VAN DEN BERGHE, H. and MICHAUX, L., 1997. 5q-, Twenty-Five Years Later: a Synopsis. *Cancer genetics and cytogenetics*, **94**(1), pp. 1-7.

VISSER, O., TRAMA, A., MAYNADIE, M., STILLER, C., MARCOS-GRAGERA, R., DE ANGELIS, R., MALLONE, S., TEREANU, C., ALLEMANI, C., RICARDI, U., SCHOUTEN, H.C. and RARECARE WORKING GROUP, 2012. Incidence, survival and prevalence of myeloid malignancies in Europe. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*, **48**(17), pp. 3257-3266.

WANG, H., WANG, X., XU, X. and LIN, G., 2010. Cytogenetic features and prognosis analysis in Chinese patients with myelodysplastic syndrome: a multicenter study. *Annals of Hematology*, **89**(6), pp. 535-544.

WENG, H.H., TSAI, S.S., CHEN, C.C., CHIU, H.F., WU, T.N. and YANG, C.Y., 2008. Childhood leukemia development and correlation with traffic air pollution in Taiwan using nitrogen dioxide as an air pollutant marker. *Journal of toxicology and environmental health. Part A*, **71**(7), pp. 434-438.

WENG, H.H., TSAI, S.S., CHIU, H.F., WU, T.N. and YANG, C.Y., 2009. Childhood leukemia and traffic air pollution in Taiwan: petrol station density as an indicator. *Journal of toxicology and environmental health. Part A*, **72**(2), pp. 83-87.

WETZLER, M., DODGE, R.K., MROZEK, K., CARROLL, A.J., TANTRAVAHU, R., BLOCK, A.W., PETTENATI, M.J., LE BEAU, M.M., FRANKEL, S.R., STEWART, C.C., SZATROWSKI, T.P., SCHIFFER, C.A., LARSON, R.A. and BLOOMFIELD, C.D., 1999. Prospective karyotype analysis in adult acute lymphoblastic leukemia: the cancer and leukemia Group B experience. *Blood*, **93**(11), pp. 3983-3993.

WETZLER, M., DODGE, R.K., MROZEK, K., STEWART, C.C., CARROLL, A.J., TANTRAVAHU, R., VARDIMAN, J.W., LARSON, R.A. and BLOOMFIELD, C.D., 2004. Additional cytogenetic abnormalities in adults with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukaemia: a study of the Cancer and Leukaemia Group B. *British journal of haematology*, **124**(3), pp. 275-288.

WOESSNER, S., FLORENSA, L. and SANS-SABRAFEN, J.(., 2000. *La Citología óptica en el diagnóstico hematológico*. 4a edn. Madrid: Acción Médica.

WOYACH, J.A., RUPPERT, A.S., HEEREMA, N.A., PETERSON, B.L., GRIBBEN, J.G., MORRISON, V.A., RAI, K.R., LARSON, R.A. and BYRD, J.C., 2011. Chemoimmunotherapy with fludarabine and rituximab produces extended overall survival and progression-free survival in chronic

---



lymphocytic leukemia: long-term follow-up of CALGB study 9712. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*, **29**(10), pp. 1349-1355.

YAGISAWA, K., OKAZUKA, K., TOBA, K., URUSHIYAMA, M., KUROHA, T., IZUMI, N., SIBASAKI, Y., HIGASHIMURA, M., YANO, T., MOMOI, A., HATTORI, A., MOMOTSU, K. and AIZAWA, Y., 2012. Features of Japanese patients with myelodysplastic syndrome in an aging population of Sado Island. *International journal of hematology*, **95**(4), pp. 420-427.

YAMAMOTO, J.F. and GOODMAN, M.T., 2008. Patterns of leukemia incidence in the United States by subtype and demographic characteristics, 1997-2002. *Cancer causes & control : CCC*, **19**(4), pp. 379-390.

YAMAMURA, Y., OUM, R., ELHOR GBITO, K.Y., GARCIA-MANERO, G. and STROM, S.S., 2013. Dietary Intake of Vegetables, Fruits, and Meats/Beans as Potential Risk Factors of Acute Myeloid Leukemia: A Texas Case-Control Study. *Nutrition and cancer*, .

YE, Z. and SONG, H., 2005. Glutathione s-transferase polymorphisms (GSTM1, GSTP1 and GSTT1) and the risk of acute leukaemia: a systematic review and meta-analysis. *European journal of cancer (Oxford, England : 1990)*, **41**(7), pp. 980-989.

ZEMANOVA, Z., MICHALOVA, K., BURYOVA, H., BREZINOVA, J., KOSTYLKOVA, K., BYSTRICKA, D., NOVAKOVA, M., SAROVA, I., IZAKOVA, S., LIZCOVA, L., RANSDORFOVA, S., KREJCIK, Z., MERKEROVA, M.D., DOHNALOVA, A., SISKOVA, M., JONASOVA, A., NEUWIRTOVA, R. and CERMAK, J., Involvement of deleted chromosome 5 in complex chromosomal aberrations in newly diagnosed myelodysplastic syndromes (MDS) is correlated with extremely adverse prognosis. *Leukemia research*, (0),.

ZENZ, T., MERTENS, D., DOHNER, H. and STILGENBAUER, S., 2008. Molecular diagnostics in chronic lymphocytic leukemia - pathogenetic and clinical implications. *Leukemia & lymphoma*, **49**(5), pp. 864-873.

ZWIEBEL, J.A. and CHESON, B.D., 1998. Chronic lymphocytic leukemia: staging and prognostic factors. *Seminars in oncology*, **25**(1), pp. 42-59.