
ALTA PROPORCIÓN DE TRANSCRITOS BCR/ABL EN PACIENTES CON LEUCEMIA MIELOIDE CRÓNICA EN COLOMBIA

Iván Hernández Ramírez¹, Jaime Alberto Gavilanes Caicedo², María Edilma Bastidas de Erazo³, María del Rosario Álvarez Venegas⁴, Patricia Concha Delgado⁵

RESUMEN

Métodos: Mediante análisis por RT-PCR del RNAm extraído de leucocitos de sangre periférica obtenida de pacientes <12 años diagnosticados con leucemia mieloide (C92), se planteó como objetivo identificar la proporción de transcritos b2a2 y b3a2 de BCR/ABL útiles en el diagnóstico de la Leucemia Mieloide Crónica. **Resultados:** De doce pacientes evaluados, el 67% (ocho) presentaron el transcrito b2a2 y 33% (cuatro) presentaron el transcrito b3a2. **Conclusión:** Esta proporción mayor para b2a2 difiere de lo observado en otros estudios mundiales: Inglaterra, Japón, Italia, España pero se aproxima a los hallazgos de estudios mexicanos y ecuatorianos.

Palabras clave: Leucemia, transcritos de fusión, transcritos b2a2 y b3a2, reacción en cadena de la polimerasa (PCR), fusión BCR/ABL

¹ Biol Gen, MSc (Epidemiol). Docente investigador Programa Medicina Universidad Cooperativa de Colombia, sede Pasto.

² MD, Internista. Docente investigador Programa Medicina Universidad Cooperativa de Colombia, sede Pasto.

³ MD, Esp Audit Salud. Gerente científica Hospital infantil los Ángeles-Pasto.

⁴ MD, Pediatra-oncóloga, Unidad onco-hematología Pediátrica Hospital Infantil los Ángeles-Pasto.

⁵ Bacteriol. Laboratorio Clínico Hospital Infantil los Ángeles-Pasto.

HIGH PROPORTION OF BCR/ABL IN PATIENTS WITH CHRONIC MYELOID LEUKEMIA IN COLOMBIA

ABSTRACT

Methods: By RT-PCR analysis of mRNA extracted from peripheral blood leukocytes obtained from <12 years old patients with myeloid leukemia, we intended to identify the proportion of transcripts b2a2 and b3a2 BCR/ABL useful in the diagnosis of chronic myeloid leukemia. **Results:** In twelve patients evaluated, 67% (eight) presented the b2a2 and 33% (four) presented the b3a2 transcript. **Conclusion:** This larger proportion of b2a2 differs from that observed in other global studies: England, Japan, Italy, Spain but is close to the findings of Mexican and Ecuadorian studies.

Key words: Leukemia, fusion transcripts, b2a2 and b3a2 transcripts, polymerase chain reaction (PCR), BCR/ABL fusion

INTRODUCCIÓN

Los indicadores básicos de salud 2009, Departamento de Nariño¹ reportan 28 casos de leucemias en menores de 15 años² para una tasa de 5.6 por 100.000 habitantes. 78% de los diagnósticos (veintidós casos) estaban relacionados con Leucemia Linfóide y tan solo seis casos (22%) con Leucemia Mieloide.

La leucemia es un síndrome proliferativo crónico de naturaleza clonal, originado en la célula madre hematopoyética que resulta en un excesivo número de células blásticas en todos los estadios de maduración(1-3), la mayoría de los pacientes se diagnostican en la fase crónica y los síntomas más frecuentes son: anorexia, pérdida de peso, astenia, esplenomegalia al examen físico, aunque muchos pacientes suelen ser asintomáticos y solo se descubren de manera eventual cuando un examen

de sangre casual revela leucocitosis a expensas de granulocitos neutrófilos en diferentes estadios de maduración, con predominio de mielocitos y segmentados, además de mieloblastos, basofilia y eosinofilia (4-6), en la biopsia de médula ósea se observa hiperplasia granulocítica con megacariocitos incrementados y grado variable de fibrosis reticulínica (7-9), el estudio citogenético (cariotipo) puede mostrar la translocación 9;22 que resulta en la formación del cromosoma Philadelphia (Ph), sin embargo son los análisis moleculares mediante técnicas como reacción en cadena de la polimerasa (PCR) los que identifican el gen híbrido BCR/ABL, detectando los transcritos b2a2 y b3a2 de gran utilidad en el diagnóstico de la Leucemia Mieloide Crónica (LMC), como lo han corroborado muchos estudios a nivel mundial(10-18) que de manera cuantitativa o cualitativa confirman la presencia de una proteína p210 (de 210KDa) que se identifica con la banda de 417 pb en el gel de agarosa(19).

¹ Subdirección de Salud Pública / SIVIGILA-Oficina de Epidemiología. Instituto Departamental de Salud de Nariño IDSN.

² Población menor de 15 años para 2009 fue de 502.406 habitantes.

Esta proteína producto del RNAm quimérico (BCR/ABL) posee una actividad tirosinquinasa aumentada, lo cual controla el crecimiento y diferenciación celular haciendo que las células hematopoyéticas adquieran un comportamiento neoplásico(20).

Los pacientes evaluados en este estudio se captaron entre diciembre de 2011 y marzo de 2012 fueron doce menores de doce años, 5 mujeres (42%) y 7 hombres (58%).

Aunque los estudios consultados a nivel mundial, Inglaterra (10), Japón(11), Italia(15), España(16), realizados en transcritos b2a2 y b3a2 de BCR/ABL, reportan con mayor frecuencia el transcrito b3a2, los resultados observados en el presente estudio son semejantes a los hallazgos en Ecuador(17) y México(18) en donde el transcrito b2a2 se observa mas a menudo.

MÉTODOS

Pacientes: Se obtuvieron 12 muestras provenientes de sangre periférica (2,5ml) de pacientes menores de doce años diagnosticados por primera vez con Leucemia mieloide (C92), se transportó cada muestra hasta el laboratorio de genética molecular humana de la Universidad del Valle, donde se realizó la extracción RNAm y la caracterización de la translocación, como se describe a continuación:

Obtención de buffy coat: Se adicionó a la muestra de sangre periférica Histopaque 1077(Sigma) en un tubo Falcon de 25 ml. El preparado se centrifugó a 400 x g durante 30 minutos a temperatura ambiente, obteniendo el anillo espumoso o buffy coat (19).

Extracción de RNAm: El pellet obtenido se mezcla con reactivo Trizol en una proporción de 0,25 ul de muestra con 0,75 ml de Trizol (19).

Obtención del DNAc: Con la primera cadena de DNAc a alta temperatura, que incrementa la especificidad aumentando la producción de DNAc de longitud total, generando un DNAc de 12,3 Kb, mediante el uso de SuperScript™ II Reverse Transcriptase (versión diseñada con una reducida actividad de RNAasa H e incrementada estabilidad térmica); esta enzima se purifica desde E. coli y contiene el gen modificado “pol”, del virus Molony Murine Leukemia. En general, se obtuvieron concentraciones de 1 ng-5 ul de RNA total o 1-500 ng de RNAm, lo cual permitió ajustar las reacciones a volúmenes de 20 ul.

Caracterización de transcritos: Diez microlitros de cada muestra fueron analizados en gel de poliacrilamida al 2% con AgNO₃. Los casos positivos para b2a2 mostraron una banda de 238 pb y para b3a2 la banda era de 313 pb (figura 1).

Controles: Se contó con el apoyo de 24 familias que mediante consentimiento informado facilitaron muestras provenientes de doce niños y doce niñas normales, como control negativo para el análisis de algún tipo de rearrreglo BCR/ABL que expresara transcritos p210 BCR-ABL.

RESULTADOS

Entre diciembre de 2011 y marzo de 2012 se diagnosticaron 12 pacientes con Leucemia (tabla 1), si el comportamiento observado se mantiene, al final del 2012 se esperarían 48 pacientes, a diferencia de la cifra reportada en el 2009 de 28 pacientes.

El transcrito observado con mayor frecuencia fue b2a2 (8/12)(tabla 1) el cual según estudios realizados por Rosas-Cabral y colaboradores en México³, tiene un conteo plaquetario menor que

³ Alejandro Rosas Cabral, pertenece al Departamento de Biomedicina Molecular. CINVESTAV-IPN. México.

el observado por el transcrito b3a2, además este transcrito b3a2 está asociado a una mayor actividad de trombopoyetina por lo que la conducta biológica

de la LMC es diferente. A diferencia de otros estudios a nivel mundial el transcrito b2a2 es el de menor ocurrencia (tabla 2).

Tabla 1. Información recopilada en pacientes pediátricos diagnosticados con Leucemia por edad y género

Edad	Sexo	BCR/ABL	
		b2a2	b3a2
2	masculino	--	Si
2	femenino	--	Si
2	femenino	Si	--
2	masculino	Si	--
3	masculino	Si	--
3	femenino	Si	--
3	femenino	--	Si
3	masculino	Si	--
4	masculino	--	Si
4	masculino	Si	--
6	femenino	Si	--
12	masculino	Si	--

N=12 pacientes pediátricos diagnosticados con Leucemia, 2012

FUENTE: los autores

Tabla 2. Comparación de prevalencias en estudios mundiales

Estudios	n	b3a2	b2a2	Análisis bivariado	
				OR IC 95%	p
Shepherd,1995 ⁽¹⁰⁾	119	73	46	3.17(.788-15.102)	.0603
Inokuchi,1991 ⁽¹¹⁾	57	34	23	2.95(.682-14.805)	.0958
Martinelli,1998 ⁽¹⁵⁾	34	24	10	4.8 (.9725-26.135)	.0230
Cervantes,1996 ⁽¹⁶⁾	84	46	38	2.42(.5878-11.747)	.1645
Este estudio,2012	12	4	8	1.8 (.0804-125)	0.665
Paz y Mino,2002 ⁽¹⁷⁾	144	7	137	0.102(.0207-.5924)	.0002
Meza,2007 ⁽¹⁸⁾	93	41	46	1.782(.4355-8.65)	.3684

FUENTE: los autores

Tabla 3. Relación entre algunas variables registradas y los transcritos

Variable	n	b3a2	b2a2	Análisis bivariado	
				OR	p
Edad	8	3	5	1.8	0.665
Sexo	7	2	5	0.6	0.6788

FUENTE: los autores

Análisis estadístico: Se estudiaron 12 pacientes en total, 8(67%) mostraron el transcrito b2a2 y 4(33%) el transcrito b3a2. 7(58%) eran hombres y 5(42%) mujeres. 8(67%) estaban con menos de tres años, mientras que 4(33%) superaban los 4 años. 5(63%) del transcrito b2a2 fueron hombres y 3(37%) mujeres, con el transcrito b3a2 la distribución fue equitativa entre hombres y mujeres(2:2). El promedio de edad del grupo fue de 3.8 años, en hombres 4.28 años y para mujeres 3.2 años.

Se quiso establecer si existía algún tipo de asociación entre los transcritos, la edad, el género, así como comparar prevalencias en los diferentes estudios pero la similitud con significancia estadística fue en el estudio ecuatoriano. Para los análisis se empleo el programa STATA y de manera simplificada se obtuvieron los siguientes datos (tabla 2 y tabla 3). Aunque se obtuvieron valores de OR que mostraban algún grado de asociación los intervalos de confianza que contenían el 1, hacían de esta observación poco confiable, además el valor de “p” muy por encima de 0.05 no es significativo estadísticamente. Dicho de otra manera, no hay evidencia suficiente para establecer que la edad o el sexo tienen algún tipo de efecto sobre el transcrito y en términos generales entre los estudios el de mayor semejanza fue el ecuatoriano con un valor de $X^2=19$ ($p<0.000$). es posible que aquí los componentes genéticos y ambientales estén mucho más marcados por la cercanía geográfica y los orígenes ancestrales.

Prueba molecular cualitativa: El RNAm extraído de leucocitos de sangre periférica por el método del ácido guanidin- tiocianato-fenol-cloroformo (26). El DNAc se obtuvo a partir de RNA por oligo-dT priming (GIBCO). El PCR para los transcritos b2a2 y b3a2 de BCR/ABL se consiguió de acuerdo con el siguiente ciclo térmico: 95 °C/1 min, 62 °C/1 min, 72 °C/1 min, previa desnaturalización a 96 °C/3 min y extendido a 72 °C/10 min. Se usaron “primers” sense y anti-sense y sus respectivos controles internos, al final 10 ul de cada muestra fueron analizados en un gel de agarosa al 2% y teñidos con bromuro de etidio. Dando positivo para b2a2 la banda más liviana (baja) y para b3a2 la más pesada (arriba) como se muestra a continuación en la figura 1.

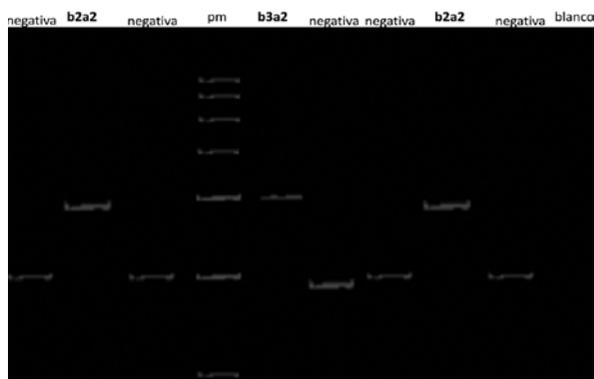


Figura 1. Gel de agarosa al 2% teñido con bromuro de etidio. Carril (pm) se observa el marcador de peso molecular 100 pb (GOBCO, VRL), último carril blanco de agua. Los carriles 2 y 8 son pacientes con transcrito b2a2 (banda de 238 pb) mientras que el carril 5 muestra el transcrito b3a2 (banda de 313 pb). Los carriles 1,3,6,7,9 corresponden a pacientes normales.

FUENTE: los autores

DISCUSIÓN

El Gobierno Colombiano, dentro del Plan Nacional para el control del cáncer (PNCCA) a desarrollar en el periodo comprendido entre 2010 y 2019, planea implementar el SIVECAO: Sistema de Vigilancia Epidemiológica para el control del Cáncer

Ocupacional, y estudios como este en donde se estandariza una técnica y se evalúan marcadores para garantizar un buen diagnóstico de los diferentes tipos de cáncer ocupacional son de gran apoyo para las metas establecidas por el PNCCa.

Las cifras reportadas por los diferentes Institutos Departamentales de salud en el país, permiten orientar a los investigadores en el campo de la salud con el fin de adoptar e implementar programas de promoción de la salud y prevención de la enfermedad, de esta manera es posible optimizar los recursos provenientes del SGSSS. Llama poderosamente la atención ciertas diferencias con los reportes, por ejemplo: como se menciona antes, el IDSN en su boletín epidemiológico reportó 28 casos de leucemia en menores de 15 años para el 2009, de los cuales 22 correspondieron a Leucemia Linfocítica y solo 6 a leucemia mieloide.

Algunos autores manifiestan que la leucemia linfocítica aguda (LLA) representa para la población infantil menor de 15 años el 23% de los diagnósticos de Ca, pero el grupo observado en el presente estudio indica una situación diferente: de doce menores de doce años diagnosticados con leucemia en el periodo comprendido entre diciembre de 2011 y marzo de 2012, al aplicar la prueba molecular todos resultaron positivos para BCR/ABL que manifiesta la Leucemia Mieloide Crónica (tabla 1).

La variabilidad genética humana y el ambiente son elementos que convergen en la expresión fenotípica como plantea Richard Dawkins en su libro "Fenotipo extendido", es posible entonces, plantear la existencia de malformaciones congénitas o anomalías congénitas, explicando la relación directa existente entre el genotipo y el ambiente en la expresión o fenotipo, en ese orden de ideas, es posible la existencia de LMC Ph negativo bcr positivo cuyo comportamiento a nivel clínico y hematológico

es idéntico a aquellos con cromosoma Philadelphia, puesto que la translocación existe pero no es posible detectarla a nivel citogenético (21). Algo similar ocurre con los casos en que se sospecha de la existencia del cromosoma Philadelphia pero su presencia no se puede confirmar o descartar con el estudio citogenético debido a la existencia de translocaciones complejas que incluyen al cromosoma 22 y pueden dar lugar al fenómeno conocido como Philadelphia "enmascarado"(21). También puede producirse una translocación que ocasione la presencia de un cromosoma 22q- Ph "like", en estos casos donde la citogenética no proporciona los resultados esperados es necesario llevar a cabo un estudio molecular completo para descartar la presencia de la translocación, como ocurrió en este caso (22).

Con el empleo del estudio molecular es posible descartar la sospecha de LMC en aquellos pacientes en los que no se puede llevar a cabo el estudio citogenético o éste no es concluyente como es el caso de algunos trabajos ya realizados (23). En ocasiones el cromosoma Philadelphia no se detecta citogenéticamente porque se encuentra en un porcentaje bajo y no se observa en las células estudiadas en división; la utilización de técnicas moleculares resuelve en gran medida este problema (24).

Los transcritos b3a2 y b2a2 definen la conducta diagnóstica, así como el tratamiento y la expectativa de vida del paciente, por ejemplo: el conteo plaquetario en b3a2 es mayor que en b2a2, está asociado con mayor actividad de la trombopoyetina, mientras que el transcrito b2a2 tiene el mejor pronóstico al tratarse con Mesilato de Imatinib (Glivec®) (25).

Las diferencias observadas en los resultados de los estudios europeos, asiáticos y americanos sugieren alguna correlación geográfica, es decir,

efecto de tipo ambiental que influye en la expresión de los transcritos.

ANÁLISIS DE SESGOS

Los pacientes no tenían estudios citogenéticos (cariotipo) para observar el cromosoma Philadelphia (Ph⁺); El tamaño de la muestra es reducido. Deficiente información proveniente del paciente, lo cual no permite contextualizar y ampliar la descripción cualitativa de la muestra.

CONCLUSIONES

Con base en la información recopilada del grupo estudiado, podemos llegar a algunas conclusiones. Entre ellas, que la totalidad de los pacientes dieron positivo para LMC; 67% de los pacientes presentaron el transcrito b2a2 de BCR/ABL (63%, hombres, 37% mujeres). 33% de los pacientes presentaron el transcrito b3a2 de BCR/ABL y su distribución fue equitativa (2:2). La LMC se presentó más en hombres (58%) que en mujeres (42%), 67% de los diagnosticados con LMC eran menores de tres años y 33% superaban los 4 años. El promedio de edad del grupo fue de 3.8 años (hombres, 4.28 años; mujeres, 3.2 años).

No hay evidencia estadística suficiente para establecer relación alguna entre variables como la edad y el sexo frente a cualquiera de los transcritos. Las comparaciones entre diferentes estudios mundiales consultados no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre las prevalencias, excepto al comparar este estudio con el desarrollado en Ecuador por Paz y Mino en 2002.

Aunque la asociación observada entre las variables no es muy fuerte, las frecuencias y los porcentajes permiten describir una realidad sobre los diagnósticos de LMC, la periodicidad de los

eventos en tan corto tiempo diciembre-marzo, puede indicar que existe sub-registro.

La edad, el género, no son variables que influyan de alguna manera en sufrir LMC, el mayor número de diagnósticos se observó en menores de tres años y fueron más los hombres que las mujeres en una proporción de 1.4 a 1. El riesgo de padecer LMC depende de la información genética congénita y el efecto ambiental que activa estos genes en algún momento de nuestras vidas. No adoptar medidas preventivas: diagnóstico temprano, cambio de hábitos de vida, entre otros puede significar la diferencia entre los diferentes pacientes con LMC.

RECOMENDACIONES

Para mejorar la calidad de estudios posteriores recomendamos usar la RT-PCR para transcritos b2a2 y b3a2 de BCR/ABL en el diagnóstico de LMC y hacer estudios de secuenciación de las variantes b2a2 y b3a2 con la finalidad de observar mutantes que establezcan la conducta biológica de la LMC. Se debe realizar cariotipo para cada paciente diagnosticado con LMC y protocolizar en la institución hospitalaria el uso de la prueba como apoyo al diagnóstico de LMC.

Conflictos de interés

Ninguno.

Agradecimientos

Los autores agradecen a los estudiantes pertenecientes al semillero de investigación del grupo AMEC Programa Medicina de la Universidad Cooperativa de Colombia-Pasto: Diana Carolina Portilla, Ángela Erazo Gustin, Maritza Estrada Tobar, Darly Melo Melo, Karla Narváez Cisneros, Carolina Yepes Paz, así como a los padres de familia que mediante

consentimiento informado permitieron la toma de muestra y consiguiente realización de este estudio.

REFERENCIAS

- Dunedin G. The story of chronic myeloid leukaemia. *Br J Haematol*.2000; 1(10):2-11.
- Rowley JD. A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and giemsa staining. *Nature*.1973; 243:290-3.
- Nowell P, Hungerford D. A minute chromosome in chronic granulocytic leukemia. *Science*.1960;132:1497.
- Quintas-Cardama A, Cortes JA. Chronic Myeloid Leukemia: Diagnosis and treatment. *Mayo Clinic Proceedings*.2006;81:973-88.
- Testoni N, Marzocchi G, Luatti S, Amabile M, et al. Chronic Myeloid Leukemia: a prospective comparison of interphase fluorescence in situ hybridization and chromosome banding analysis for the definition of complete cytogenetic response: a study of the GIMENA CML WP. *Blood* 2009;114:4939-43.
- Goldman J, Melo J. Chronic myeloid leukemia. Advances in biology and new approaches to treatment. *N Engl J Med*.2003;349:1451-64.
- Hallek M, Cheson BD, Catovsky D, Caligaris-Cappio F, Dighiero G, Döhner H, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the international workshop on chronic lymphocytic leukemia updating the National Cancer Institute-Working group 1996 guideline. *Blood*.2008;111(12):5446-56.
- Rawstron AC, Bennett FL, O'Connor SJ, Marwan K, James AL, Fenton DP et al. Monoclonal B-cell lymphocytosis and chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*.2008;359(6): 575-783.
- Faderl S, Talpaz M, Estrov Z, O'Brien S, Kurzrock R, Kantarjian HM. The Biology of chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 1999;341:164-72
- Shepherd P, Suffolk R, Halsey J, Allan N. Analysis of molecular breakpoint and mRNA transcripts in a prospective randomized trial of interferon in chronic myeloid leukaemia: no correlation with clinical features, cytogenetic response, duration of chronic phase, or survival. *Br J Haematol*.1995;89:546-54
- Inokuchi K, Inoue T, Tojo A, Futaki M, Miyake K, Yamada T, Tanabe Y, Ohki I, Dan K, Ozawa K, Asano S, Nomura T. A possible correlation between the type of bcr/abl hybrid messenger RNA and platelet count in Philadelphia-positive chronic myelogenous leukemia. *Blood*.1991;78:3125-7.
- Udomsakdi-Auewarakul C, U-Pratya Y, Boonmoh S, Vatanavicharn S. Detection molecular variants of BCR/ABL gene in bone marrow and blood of patients with chronic myeloid leukemia by reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR). *J Med Assoc Thai*.2000;83:928-35.
- Prejzner W. Relationship of the BCR gene breakpoint and the type of BCR/ABL transcript to clinical course, prognostic indexes and survival in patients with chronic myeloid leukemia. *Med Sci Monit*.2002;8:BR193-7.
- Seferynska I, Brojer E, Sankowska M, Majewski M, Maj S. A relationship between the breakpoint of the bcr gene and some hematologic parameters in patients with chronic myelogenous leukemia. *Acta Haematol Pol*.1995;26:385-91.
- Martinelli G, Testoni N, Montefusco V, Amabile M, Saggio G, Ottaviani E, et al. Detection of bcr/abl transcript in chronic myelogenous leukemia patients by reverse-transcription-polymerase chain reaction and capillary electrophoresis. *Haematologica*.1998;83:593-601.
- Cervantes F, Colomer D, Vives-Corrons JL, Rozman C, Montserrat E. Chronic Myeloid Leukemia of thrombocytemic onset: a CML subtype with distinct hematological and molecular features? *Leukemia*.1996;10:1241-43.
- Paz-y-Mino C, Burgos R, Morillo SA, Santos JC, Fiallo BF, Leone PE. BCR/ABL rearrangement frequencies in chronic myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia in Ecuador, South America. *Cancer Genet Cytogenet*.2002;132:65-7.
- Meza-Espinosa JP, Gutierrez-Angulo M, Vazquez-Cardenas A, Delgado-Lamas JL, Esparza-Flores MA, Gonzalez-Garcia JR. Prevalence of the BCR/ABL transcripts in Mexican patients with chronic myelogenous leukemia. *Rev Investigación Clínica*.2007;59(5):338-341.
- Hernández I, Gavilanes JA. Diagnostico de leucemia mediante bcr/abl. *Revista Memorias*.2011;9(15):9-16.
- Giles FJ, O'Dwyer M, Swords R. Class effects of tyrosine kinase inhibitors in the treatment of chronic myeloid leukemia. 2009;23(10):1-10.
- Rohrbacher M, Berger U, Hochhaus A, Metzgeroth G, Adam K, Lahaye T, Saussele S, Müller MC, Hasford J, Heimpel H, Hehlmann R. Clinical trials underestimate the age of chronic myeloid leukemia (CML) patients. Incidence and median age of Ph/BCR-ABL-positive CML and other chronic myeloproliferative disorders in a representative area in Germany. *Leukemia*.2009;23: 602-604.
- Cross NCP, Daley GQ, Green AR, Hughes TP, Jambieson C, Manley P, Mughal T, Perrotti D, Radich J, Skoda R, Soverini S, Vainchenker W, Verstovsek S, Villeval J-L, Goldman JM. BCR-ABL1-positive CML and BCR-ABL1-negative chronic myeloproliferative

- disorders:some common and contrasting features. *Leukemia*.2008; 22:1975–1989.
23. Mayr C, Speicher MR, Kofler DM, Buhmann R, Strehl J, Busch R, Hallek M, Wendtner C-M. Chromosomal translocations are associated with poor prognosis in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*.2009;107(2):742-751.
24. Van Dongen, JJM., E.A. Macintyre, J.A. Gabert, E. Delabesse, V. Rossi, G. Saglio, E. Gottardi, A. Rambaldi, G. Dotti, F. Griesinger, A. Parreira, P. Gameiro, M. González, M. Malec, A.W. Langerak, J.F. San Miguel & A. Biondi. Standardized RT-PCR analysis of fusion gene transcripts from chromosome aberrations in acute leukemia for detection of minimal residual disease. *Leukemia*. 1999;13:1901–1928.
25. Rosas-Cabral A, Martínez-Mancilla M, Ayala-Sánchez M, Vela-Ojeda J, Bahena-Resendiz P, Vadillo-Buenfil M, et al. Análisis del tipo de transcrito bcr-abl y su relación con la cuenta plaquetaria en pacientes mexicanos con leucemia mieloide crónica. *Gac Méd Méx*.2003;139(6):553-59.
26. Chomczynski P, Sacchi N. Single-step method of RNA isolation by acid guanidin Thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal Biochem*. 1987;162:156-9

Fecha de Recibido: Mayo 15 de 2012.

Fecha de Aprobado: Octubre 5 de 2012.

Dirección para correspondencia:

*Iván Hernández Ramírez
ivanhernandezramirez@yahoo.es,
ivan.hernandez@ucc.edu.co.*