

4. DISCUSSIÓ

4.1. Alteracions citogenètiques en la LLC-B atípica (articles 1 i 2)

Les alteracions citogenètiques associades específicament a la forma atípica de la LLC-B (LLCa) han estat poc estudiades, ja que les sèries que inclouen estudis citogenètics i d'HIS, clàssicament, no han distingit entre les dues formes morfològiques de la malaltia (Juliusson i col., 1990; Oscier i col., 1990; Juliusson i col., 1991). L'alteració que més sovint s'ha associat a la LLCa ha estat la trisomia 12 (Criel i col., 1994; Woessner i col., 1994; Matutes i col., 1996; Woessner i col., 1996). Les principals sèries sobre alteracions citogenètiques en la LLCa es mostren a la Taula 2 de l'article 1⁴. Criel i col. (1994) detecten un 62% d'alteracions citogenètiques, entre les quals, la trisomia 12 és l'alteració més freqüent, amb una incidència global del 57% (detectada per FISH). En la sèrie de Matutes i col. (1996), un 45% dels pacients presenten anomalies cromosòmiques, un 18% amb trisomia 12, un 7% amb del(13q) i el 20% restant amb altres alteracions cromosòmiques. La sèrie previa estudiada en el nostre laboratori sobre 13 casos (Woessner i col., 1996) detecta anomalies en el 62% de casos, i trisomia 12 en el 31%. En una sèrie posterior de Criel i col. (1997), la incidència d'alteracions en el cariotip és del 55.2%, un 35.8% presenten trisomia 12 i un 19.4% dels pacients presenten altres alteracions. Finalment, en la sèrie de Bigoni i col. (1997), les alteracions citogenètiques es detecten en el 63% de malalts i la trisomia 12 en el 21% del global.

En el present estudi s'han analitzat 27 pacients afectes de LLCa i en el 70.4% (19/27) dels quals s'han detectat alteracions cromosòmiques. Cal destacar que quan s'estudia la LLCa, el percentatge de casos amb cariotip alterat (entre 55 i 72%) és més elevat que en les sèries que no seleccionen les LLC-B, en les quals la incidència se situa al voltant del 50%. Els resultats de l'article 1 confirmen que la trisomia 12 representa una alteració citogenètica associada a la LLCa. En els casos que presenten una morfologia atípica, és molt poc freqüent trobar altres alteracions citogenètiques. Depenent de la tècnica de detecció utilitzada, els percentatges de trisomia 12 poden ser molt diferents. Els nostres resultats ho reflecteixen: un 22% (6/27) si s'utilitza la tècnica de

⁴ Les dades sobre la sèrie de Matutes i col., 1996 estan equivocades a la Taula 2 de l'article 1. Les dades correctes es troben en el text.

citogenètica convencional respecte un 63% (17/27) aplicant la tècnica de FISH. La raó per la qual succeeix aquest fenomen és la dificultat d'estimular la divisió dels limfòcits B en cultiu *in vitro* per obtenir metafases. Quan s'aplica la citogenètica interfàsica, el resultat de l'estudi cromosòmic s'avalua sobre tots els nuclis del cultiu, hagin o no entrat en divisió, per tant, és molt més fiable i pot donar lloc a resultats diferents respecte els obtinguts per citogenètica convencional (veure 1.4.1.5.).

Respecte el tipus de mostra estudiat, el nostre treball es va basar fonamentalment en cultius de sang perifèrica, amb l'excepció de dos casos fets exclusivament sobre medul·la òssia i un cas en què es va estudiar sang perifèrica, medul·la òssia i líquid pleural. No es va obtenir cap mostra de gangli, bé perquè els malalts no presentaven adenopaties (estadis inicials) o bé per dificultats d'obtenció de la mostra. Liso i col. (1999), en un estudi fet sobre 23 LLC-B en el moment del diagnòstic, varen analitzar la presència de trisomia 12 en diferents teixits hematopoètics, sang perifèrica, medul·la òssia i gangli limfàtic, amb la intenció de determinar si l'expressió de l'alteració era homogènia en tots els teixits, o bé existien diferències. Aquest treball conclueix que el teixit amb més expressió de l'alteració cromosòmica és el gangli limfàtic, seguit de la sang perifèrica i la medul·la òssia, tot i que entre els dos darrers no existeixen diferències significatives. Aquests resultats indiquen la idoneïtat de realitzar els estudis citogenètics i per HIS de la LLC-B en mostres de gangli limfàtic com a primera opció, seguit de la sang perifèrica.

En el nostre treball, s'ha avaluat també la presència de la del(13)(q14) i la del(17)(p13), alteracions freqüents en la LLC-B. La del(13)(q14) només es va detectar en un dels 17 pacients estudiats (6%). Aquesta alteració s'ha descrit associada a forma morfològicament típica de la LLC-B (Neilson i col., 1997; Hamblin i col., 1999); tot i això, Bigoni i col. (1997) van descriure la presència d'aquesta anomalia en el 39.5% dels seus casos amb LLCa. És de destacar que les regions cobertes amb les sondes utilitzades no han estat les mateixes. Tal i com s'ha descrit anteriorment (veure 1.4.1.5.), l'hipotètic gen supressor de tumors situat a 13q14 encara no s'ha identificat, i hi ha hagut molta controvèrsia respecte quina és realment la regió que es deleciona. En un principi el gen candidat va ser el gen Retinoblastoma (RB1), per això en aquest estudi es va utilitzar la sonda LSI 13q14 o Rb. Més tard s'ha vist que la regió

delecionada es troba més a prop del telòmer, per tant, no s'hauria utilitzat la sonda adequada, i aquest fet podria ajudar a explicar que només un dels disset casos estudiats hagi presentat la deleció. Respecte la del(17)(p13), on se situa el gen TP53, no s'ha detectat en cap dels nostres pacients. Aquesta alteració es troba en un 9-15% de totes les LLC-B i s'ha associat a estadis avançats de la malaltia i refractarietat del tractament, però no s'ha vist associada específicament a cap de les variants morfològiques (Döhner i col., 1999). El fet que la majoria dels nostres pacients es trobessin en estadis inicials de la malaltia (21 estadis A, 1 estadi B, 3 estadis C, 2 desconeguts) podria explicar aquesta troballa.

Fent referència a l'afectació d'altres cromosomes, és de destacar la presència d'una del(7)(q32) com a única alteració, un derivatiu der(17)t(11;17)(p11;p11) i un cariotip complex amb presència de del(14)(q24) i der(18)t(18;22)(q21-22;q11-13) entre altres anomalies. En la sèrie de Bigoni i col. (1997) destaca l'afectació de 4q, 6q, 10q 11q i 13q com a alteracions secundàries recurrents a la LLCa, però els punts de trencament són heterogenis, de manera que calen més estudis per a definir realment quines són aquestes alteracions l'entitat que ens ocupa. La del(14q) és una alteració recurrent però poc freqüent a les SLPC-B. La majoria dels casos descrits amb aquesta deleció són LLC-B i LDCG. Les bandes més habitualment implicades són 14q22-q24, tot i que existeix poca informació al respecte. El significat clínic d'aquesta alteració encara està per determinar. Pel fet de trobar-se al LDCG, podria ser que s'associés a limfadenopaties i a formes més agressives de la malaltia (Martínez-Climent, 2000). Quant a la troballa de del(7)(q32) com a única alteració, és el primer cas de LLCa que s'ha descrit (Mitelman, 1994). El nostre grup va ser el primer a descriure la del(7)(q32) en neoplàsies de cèl·lules B madures, en concret en dos pacients afectes de LELVC, un pacient amb un LNH en fase leucèmica i el quart amb una TL (Solé i col., 1993). Aquesta alteració ha estat associada a limfomes de baix grau amb limfòcits B circulants que presenten característiques limfoplasmocitoides, i sovint forma part de cariotips complexos (Hernández i col., 1997b). Tal i com s'explica a la introducció, la del(7)(q32) s'ha vist associada al LEZM (article 4).

En relació a l'afectació de 17p13, en l'article 1 trobem dos pacients amb monosomia de TP53, un amb monosomia 17 i l'altre amb

der(17)t(11;17)(p11;p11). Aquests dos pacients presentaven un estadi inicial (A-0), fet que no concordaria amb l'associació entre TP53 mutat/delecionat i estadis avançats de la malaltia. En canvi, a l'article 2 es descriu un pacient amb un cromosoma dicèntric dic(17;18)(q10;q10), que presenta monosomia per TP53 i estava en estadi avançat (C-IV), en relació amb l'associació anteriorment descrita (Döhner i col., 1999). En el treball de Callet-Bauchu i col. (1999) s'estudien les alteracions citogenètiques estructurals que afecten 17p i es detecta una incidència de l'11%. Destaca el fet que 17p es transloca amb cromosomes molt diversos com a parella, entre els quals es troben els cromosomes 2, 4, 12, 13, 15, 18, 19, 20 i 22. En tots els casos excepte un, l'alteració estructural que afectava 17p formava part d'un cariotip complex, fet que permetia postular que aquestes alteracions actuarien com a alteracions secundàries a la LLC-B. Tot i això, en un dels casos, i també en el nostre (article 2), l'alteració de 17p es presenta com a única alteració, per tant, excepcionalment també podria aparèixer com a alteració primària. Tots els casos tenen en comú una pobre resposta al tractament, progressió de la malaltia i una supervivència escurçada. En la sèrie de Callet-Bauchu i col. (1999), de 14 malalts amb alteracions estructurals a 17p, quatre es presenten en forma de cromosoma derivatiu, sis en forma de cromosoma dicèntric i quatre amb tots dos tipus d'anomalia. Una incidència de cromosomes dicèntrics tan elevada com la detectada en aquesta sèrie (10/14, 71%) no havia estat mai descrita en SLPC-B. Respecte el dic(17;18)(q10;q10), sembla ser que és el dicèntric més freqüent a la LLC-B, ja que existeixen set casos descrits (Döhner i col., 1995; Callet-Bauchu i col., 1999). Una de les principals conseqüències de les translocacions no equilibrades de 17p, donin o no lloc a un cromosoma dicèntric, és la pèrdua d'una còpia del gen supressor de tumors TP53, tan associat a la LLC-B.

Finalment, cal destacar la presència d'un der(18)t(18;22)(q21-22;q11-13) en un cas amb cariotip complex. La t(18;22)(q21;q11) es considera una variant de la t(14;18)(q32;q21), característica dels LCF i dels LDCG. Aquesta alteració estructural equilibrada entre el gen bcl-2, mapat a 18q21, i el gen de la cadena lleugera lambda de les Ig, mapat a 22q11. En les LLC-B, la t(14;18)(q32;q21) i les seves variants t(2;18)(p11;q21) i t(18;22)(q21;q11) s'han descrit amb una freqüència molt baixa (1-2%). En aquests casos, és més habitual, encara que no

exclusiu, que el punt de trencament del gen *bcl-2* se situï a la regió VCR (*Variable Cluster Region*), independentment de si reordena amb el gen de les cadenes pesades (a 14q32) o amb els gens de les cadenes lleugeres de les Ig (kappa a 2p11 i lambda a 22q11). La regió VCR se situa a 5' del gen i és poc freqüent trobar aquest punt de trencament en les t(14;18) i les seves variants en LCF i LDCG. En aquests casos, el gen es trenca fonamentalment per les regions MBR (*Major Breakpoint Region*) o mcr (*minor cluster region*), situades a 3' del gen (Dyer i col., 1994; Espinet i col., 1999; Willis i Dyer, 2000).

De tots els casos de LLCa estudiats, cap d'ells presenta la t(11;14)(q13;q32) característica del LCM, que inicialment s'havia associat a algunes formes de LLC-B atípica (Brito-Babapulle i col., 1992; Cuneo i col., 1995). Tampoc no s'ha trobat trisomia 3 ni afectació de 3q, característiques dels limfomes de la zona marginal (ja siguin nodals, extranodals o esplènics).

4.2. Alteracions citogenètiques en el LCM (article 3)

En els últims anys, ha quedat plenament demostrat que la t(11;14)(q13;q32) és una alteració cromosòmica característica del LCM, i que no es troba present en la LLC-B, sigui típica o atípica, ni en el LEZM, que s'havia descrit associada a alguns LELVC (Oscier i col., 1993). Aquesta alteració es detecta en proporcions diferents depenent del tipus de tècnica utilitzada. La tècnica més fiable és la tècnica de FISH amb la sonda de dos colors que marca les regions *bcl-1* i *IgH*, detectada tant sobre metafases com sobre nuclis en interfase (actualment existeix una sonda comercialitzada per VYSIS que conté una barreja de dues sondes que cobreixen la regió *IgH*, situades a esquerra i dreta de la regió de trencament del gen, marcades de color verd, i una sonda que cobreix la regió del gen de la ciclina D1 o *CCND1* -aprox. 350 Kb-, i s'estén des d'un punt telomèric a *FGF4* fins un punt 100 Kb centromèric a *MTC*). Amb aquesta tècnica, així com si s'utilitza la tècnica de fibres de DNA, el nombre de LCM que presenten l'anomalia arriba gairebé al 100% (Bigoni i col., 1996; Monteil i col., 1996; Vaandrager i col., 1996). Per tècniques de citogenètica convencional, la t(11;14) es detecta en aproximadament un 60-70% dels casos; en aquells casos negatius, la no detecció s'atribueix a la no obtenció de metafases

patològiques, de manera que el que s'avalua no són cèl.lules leucèmiques sinó normals. Finalment, les tècniques de biologia molecular són molt limitades en aquest cas, degut al fet que els punts de trencament del gen *bcl-1* (a 11q13) són molt variables i es localitzen en una regió molt àmplia, entre 15 i 400 Kb de distància a 5' del gen de la ciclina D1. Aquest fet determina que ni la tècnica de PCR ni la tècnica de *Southern Blot* siguin capaces de detectar tots els casos en què hi ha translocació (utilitzant els encebadors o *primers* per la regió MTC, per PCR es detecten un 30-40% de casos positius, Figura 5) (Yatabe i col., 2000). En el nostre treball (article 3), la detecció de t(11;14) per citogenètica convencional ha estat molt elevada, d'un 77%, similar al trobat per alguns grups (Wlodarska i col., 1999, troben un 83% de casos amb l'alteració), mentre que altres sèries troben valors d'entre el 40 i el 60% (Johansson i col., 1995; Argatoff i col., 1997; Ott i col., 1997). En general, els cariotips associats al LCM són cariotips complexes, amb múltiples alteracions citogenètiques. En l'article 3, només un cas va presentar la t(11;14) com a única alteració (10%), així com en el treball de Wlodarska i col. (1999). Les alteracions secundàries que acompanyen la t(11;14) consisteixen tant en alteracions numèriques com estructurals, que inclouen translocacions recíproques i no recíproques, inversions, isocromosomes, delecions i cromosomes marcadors no identificables. Les principals regions involucrades es descriuen a la taula 17. Les alteracions secundàries trobades en el nostre estudi es detallen a la taula 2 de l'article 3. Els principals cromosomes implicats van ser els següents: 1, 2, 9, 13, 17 i Y. Aquests cromosomes també apareixen a les sèries de Wlodarska i col. (1999), i de Cuneo (2000), en línies generals. D'aquestes sèries es desprèn que és freqüent detectar la pèrdua de 6/6q com a alteració secundària, fet no confirmat en el nostre treball (en el qual, aquesta alteració només es detecta en un sol cas). Els punts de trencament afectats són molt variables degut a la gran diversitat de zones afectades i també al relativament petit nombre de casos estudiats globalment a la literatura. La pèrdua del cromosoma Y, inclosa en totes les sèries com a alteració secundària, té unes implicacions poc clares, ja que s'ha descrit associada a homes d'edat avançada, com si respongués al fenomen de l'envelliment (Mitelman i Levan, 1981). Tot i això, pel fet de formar part de cariotips complexes i de coexistir amb altres metafases cromosòmicament normals, es podria inferir que en aquests casos no seria una

alteració cromosòmica relacionada amb l'edat avançada dels pacients, sinó pròpia de la malaltia. De la nostra sèrie de LCM, dos malalts han presentat alteracions cromosòmiques en el cromosoma 7, un a 7p22 i l'altre a 7q32, aquest últim en forma de deleció i com a única alteració (veure taula 1 de l'article 3). Com s'ha esmentat en l'apartat anterior (veure 4.1.), aquesta aberració s'ha descrit en diversos tipus de SLPC-B de cèl.lules madures (Hernández i col., 1997b), i associat al LEZM, però el fet de trobar-la en altres limfomes descarta l'exclusivitat per una sola patologia. Respecte a la regió 17p13, s'ha vist afectada en dos pacients, que en el moment d'escriure l'article havien mort (supervivències de 12 i 87 mesos), fet que es relaciona amb el mal pronòstic que confereix aquesta anomalia, ja sigui a la LLCa com al LCM o a altres entitats.

En les formes blàstiques, s'ha descrit una incidència més elevada de clons tetraploides o hipotetraploides (aproximadament en un 30% de les formes blàstiques, totes elles de subtipus pleomòrfic), però sempre amb la presència de la t(11;14), com a característiques principals (Ott i col, 1997). De la present sèrie de LCM, només tres casos han estat diagnosticats com a formes blàstiques, però en cap dels casos s'ha trobat un cariotip tetraploide. En dos d'ells es va detectar la t(11;14) formant part d'un cariotip complex i en un tercer, la única alteració observada va ser una del(16)(q22).

Respecte el tipus de mostres utilitzades, es varen utilitzar cèl.lules procedents de gangli limfàtic i de sang perifèrica. De la nostra experiència es desprèn que els cariotips realitzats en gangli limfàtic donen millors resultats que aquells realitzats en sang perifèrica, en relació també amb el grau d'infiltració en aquest últim teixit. En cap dels malalts estudiats s'ha detectat la presència de del(13)(q14), de del(11)(q22-q23) ni de trisomia 12, alteracions clàssiques de la LLC-B. En canvi, la +3, que es vol associar amb els limfomes marginals, entre ells els LEZM, s'ha detectat en un malalt, així com la del(7)(q32).

Taula 17. Alteracions cromosòmiques secundàries recurrents en el LCM (segons un estudi fet sobre 41 casos de LCM; Wlodarska i col., 1999)

Tipus d'alteracions recurrents	Freqüència (%)
Alteracions estructurals-Punts de trencament	
3q11	5
10p15	7
11q13	7
11q21*	5
11q22	5
12q24	5
13q34	5
15q26	5
17q21	5
19q13	5
Alteracions numèriques- Pèrdues	
1/1p	15
2q*	5
3p	7
6/6q*	24
7q	10
8/8p	12
9/9q*	20
10/10p*	12
11q*	22
13/13q	27
14	17
17/17p	10
Y	12
Alteracions numèriques- Guanys	
3/3q*	20

* Anomalies que es detecten com a única alteració addicional en cariotips amb t(11;14)

4.3. Alteracions citogenètiques en el LEZM (article 4)

En el LEZM, com ja s'ha esmentat a la introducció, la definició de les entitats citogenètiques recurrents ha estat força controvertida. En els inicis, les alteracions citogenètiques es varen descriure en el LELVC, la forma d'expressió perifèrica del LEZM, i es va trobar com a alteració característica la $t(11;14)(q13;q32)$, ja descrita en el LCM (Oscier i col., 1993; Jadayel i col., 1994; Troussard i col., 1998). Posteriorment, en una reclassificació dels casos inclosos en el primer estudi, es va veure que molts d'ells corresponien a LCM leucemitzats, que morfològicament i immunofenotípicament es poden confondre amb LEZM/LELVC (Isaacson, 1999), fet que precisament ha motivat la realització d'aquesta tesi. Savilo i col. (1998), en un estudi sobre 17 LEZM, analitzen la presència o absència de translocació $t(11;14)$ per citogenètica convencional, de reordenament de *bcl-1* per *Southern Blot*, de presència d'ARN missatger de ciclina D1 per *Northern Blot* i d'expressió proteica de ciclina D1 per immunohistoquímica. En cap dels casos es detecta presència de translocació, reordenament, quantitat d'ARN missatger ni expressió proteica de ciclina D1. Aquest treball de Savilo i col. (1998) fa esment del contrast dels seus resultats amb els resultats d'Oscier i col. (1993) i Jadayel i col. (1994). Com ja hem esmentat repetidament, en cap dels casos inclosos en l'article 4 (amb un diagnòstic esplènic exhaustiu) s'ha detectat la $t(11;14)$.

Els cromosomes 1, 3, 7 i 8 han estat els més implicats, sobre una sèrie de 19 malalts, dels quals, un 58% ha presentat alteracions citogenètiques. En vuit dels dinou malalts, el cariotip ha presentat tres o més anomalies cromosòmiques (cariotip complexe). L'afectació del cromosoma 3 ha estat la més freqüent, en forma de trisomia en un 36% dels casos. La $del(7q)$ també es perfila com a important. En una ampliació de la nostra sèrie (article 4) fins a 47 pacients (dades en publicació), les alteracions més freqüents són els **guanys de 3q**, en forma de $+3/+3q$, detectats en el 30% de pacients (la trisomia 3, sense tenir en compte els casos de $+3q$, es detecta en un 17% de casos) i les **pèrdues de 7q**, fonamentalment en forma de $del(7q)$, en un 35% de pacients.

La **trisomia 3** no sembla ser una alteració característica com a distintiva en els LEZM. Com s'ha esmentat anteriorment, aquesta anomalia citogenètica s'ha associat als limfomes marginals nodals i extranodals en més elevada proporció

que no pas als esplènics (62% i 67% respecte 55% respectivament, Dierlamm i col., 1996b; 60% en extranodals, Wotherspoon i col., 1995). En un estudi recent, Gruszka-Westwood i col. (1999) detecten una incidència de +3 d'un 17% en LELVC, utilitzant tècniques de FISH interfàsica. En totes les sèries de LEZM/LELVC, la +3/+3q s'observa en un nombre inferior de malalts que en els LZMN i els LMALT, fet que permetria diferenciar l'entitat que ens ocupa de la resta de limfomes de la zona marginal, tot i mantenir una certa similitud.

La **del(7)(q32)** és una alteració citogenètica detectada en diversos tipus de limfomes de baix grau amb expressió hemoperifèrica que presenten característiques limfoplasmocitoides (Hernández i col., 1997b). Molt sovint, aquesta anomalia es presenta formant part de cariotips complexes, fet que suggeriria que el gen supressor de tumors potencial situat a 7q32 tindria un paper relacionat amb la progressió de la malaltia, més que no pas amb el desencadenament d'aquesta. Tot i això, en alguns casos s'ha detectat com a única alteració. Mateo i col. (1999) han estudiat les pèrdues al·lèliques de 7q (des de 7q21 a 7q36) per pèrdua d'heterozigositat (LOH, de l'anglès *loss of heterozigosity*) en 20 casos de LEZM i en 26 casos afectes d'altres tipus de SLPC-B que morfològicament es puguin confondre amb el LEZM, tals com LLC-B, LCM, LCF i LMALT. Entre el grup de LEZM, un 40% de pacients presenta pèrdua de 7q, mentre que entre el grup d'altres SLPC-B només es perd en un 7.7% dels casos. La regió que es delecta amb més freqüència se situa a 7q31-32. Aquests resultats són estadísticament significatius, i apuntarien cap a 7q31-32 com a marcador d'aquest tipus de patologia, associat també a una major progressió tumoral. Cal recordar, però, que aquesta anomalia (en les nostres sèries i en d'altres) ha estat detectada també en altres patologies (LLC-B, LCM, LPC, etc), per tant, no seria una alteració citogenètica exclusiva d'aquesta entitat. Paral·lelament, Corcoran i col. (1999) han estudiat quatre casos de LELVC/LEZM i han detectat l'existència de translocacions que impliquen les bandes 7q21-q22, on està mapat el gen de la ciclina dependent de kinasa 6 (CDK6). En tres casos, el reordenament implica també la regió 2q12, on està mapat el gen de la cadena lleugera kappa de les Ig. El resultat d'aquestes translocacions condueix a una sobreexpressió de CDK6, i probablement a una desregulació del cicle cel·lular, fet que podria explicar, en part, la transformació neoplàsica. De totes maneres, cal estudiar més casos per confirmar aquestes troballes. En cap dels casos publicats

en l'article 4 ni en la sèrie posterior de 47 malalts (dades en curs publicació) s'ha trobat cap cas amb translocació de 7q21-q22 que impliqui la regió 2p12.

En el LEZM també s'han descrit alteracions citogenètiques que afecten la regió 14q32, on està mapat el gen de la cadena pesada de les Ig. A l'article 4 es descriuen dos casos amb 14q afectat, un en forma de der(14q) i l'altre en forma d'add(14)(q32). Altres translocacions descrites han estat la t(7;14)(q21;q32), variant de la t(2;7)(p12;q21), que afecta el gen CDK6, i recentment la t(6;14)(p12;q32) (Solé i col., 2000). En la sèrie ampliada del nostre grup (dades en publicació) també s'ha descrit la t(10;14)(q24;q32). La banda 10q24 es troba implicada en alteracions citogenètiques en aproximadament el 5% dels LNH de tipus B de baix grau, i amb una freqüència més baixa en els LNH de grau intermig i alt. El probable gen candidat situat a 10q24 és el gen NFkB2, que es troba alterat en menys de l'1% dels LDCG (Willis i Dyer, 2000). Totes aquestes dades confirmen la importància de la implicació del gen de la cadena pesada de les Ig en la patogènia del LEZM i de les neoplàsies de cèl.lules B madures en general.

4.4. Consideracions respecte la limfocitosi B policlonal persistent (LBPP) (article 5)

La limfocitosi B policlonal persistent (LBPP) és una patologia en la qual no existeix consens sobre si és una expressió prèvia al desenvolupament d'una leucèmia/limfoma B amb una taxa de progressió molt lenta o bé representa un fenomen reactiu. Fins a l'actualitat, existeixen prop de 60 casos referits a la literatura, dels quals dos han evolucionat, l'un cap a un blastoma pulmonar i l'altre a un limfoma no Hodgkin, al cap d'onze i dinou anys, respectivament, del diagnòstic (Lawlor i col., 1991; Delage i col., 1997).

Aquesta entitat, descrita el 1982 per Gordon i col., es caracteritza per afectar generalment dones de mitjana edat, fumadores i asimptomàtiques. Les pacients presenten limfocitosis absolutes moderades però sostingudes, d'entre 5 i 15x10⁹/L, amb la característica de presentar limfòcits bilobulats circulants. Fenotípicament, els limfòcits bilobulats expressen alhora cadenes lleugeres kappa i lambda, fet que indica la seva natura policlonal. També és característic detectar una augment policlonal d'IgM en sèrum, mentre que els nivells d'IgA i IgG es mantenen normals o baixos. És habitual la troballa d'expressió de

l'haplotip HLA-DR7 en la superfície dels limfòcits, fet que ha suggerit una possible predisposició genètica de la malaltia (Cassasus i col., 1987; Perreault i col., 1989; Delannoy i col., 1993; Matutes i col., 1994; Troussard i col., 1994; Delage i col., 1997; Troussard i col., 1996).

Si s'estudia la morfologia dels limfòcits de sang perifèrica, es poden observar dos tipus de limfòcits atípics, uns de mida més gran, similars als que es troben en determinades infeccions víriques com és el cas de la mononucleosi pel virus d'Epstein Barr, i d'altres més petits, amb un nucli bilobulat. Els limfòcits bilobulats es poden observar en algunes SLPC-B, especialment a la leucèmia prolimfocítica crònica, però també en altres entitats (com és el cas de la LLCa, el LCM i el LEZM). Per aquesta raó, és molt important establir el diagnòstic diferencial. Per altra banda, si no es realitza un bon estudi morfològic de sang perifèrica, aquesta entitat també pot passar desapercebuda. És recomanable dur a terme un estudi morfològic complementat amb altres dades, com són les immunofenotípiques i les de l'haplotip HLA-DR.

Des del punt de vista citogenètic, en aquestes malalties s'ha descrit la presència d'un isocromosoma i(3)(q10) adicional, i per estudis de FICTION (*Fluorescence Immunophenotyping and Interphase Cytogenetics as a Tool for Investigation of Neoplasms*), que combinen la FISH interfàsica amb l'immunofenotipatge, s'ha determinat que l'alteració citogenètica es distribueix a l'atzar en la població de limfòcits, independentment de l'aspecte del nucli (Callet-Bauchu i col., 1997). Val a dir que els estudis de FISH s'han dut a terme amb la sonda centromèrica del cromosoma 3, de manera que no és possible distingir entre l'isocromosoma +i(3)(q10) i la trisomia 3.

És important destacar que la trisomia 3 representa el principal marcador en els limfomes marginals, principalment extraesplènics (LZMN i LMALT), però que també es troba en un nombre no despreciable de LEZM (Wotherspoon i col., 1995; Dierlamm i col., 1996b), com s'ha esmentat anteriorment. El mecanisme pel qual la trisomia 3 o altres alteracions del cromosoma 3 podrien contribuir a la transformació neoplàsica és encara desconegut. En aquest cromosoma hi ha mapats una sèrie de gens que podrien contribuir a l'efecte neoplàsic. Aquest és el cas del gen que codifica l'antigen de superfície dels limfòcits B (localitzat a 3q13.3-3q21), que, en cas d'estar sobreexpressat, podria desencadenar un augment de la producció de limfoquines, en concret d'IL-2 (Freeman i col.,

1992; Dierlamm i col., 1996a). Per altra banda, el gen homeobox PBX2 (localitzat a 3q22-q23) i el gen que codifica una subunitat d'IL12 també podrien tenir un paper destacat (Monica i col., 1991; Wolf i col., 1991). Recentment s'han associat els reordenaments del gen bcl-6 (localitzat a 3q27) amb el LDCG, que apareix amb freqüència en localitzacions extranodals (Ye i col., 1993; Lo Coco i col., 1994). En els casos de LBPP que presenten +i(3)(q10)/+3 és probable que existeixi també sobreexpressió de diversos d'aquests gens degut a l'efecte de l'augment de la dosi gènica. És encara un interrogant l'evolució futura dels individus afectes per aquesta patologia.

5. CONCLUSIONS

• La LLCa, el LCM i el LEZM, entitats que poden ser difícils de distingir degut a la possibilitat que presentin característiques clíniques, morfològiques i immunofenotípiques molt similars, mostren les següents característiques citogenètiques:

1. LLCa

1.1. L'alteració citogenètica característica de la LLCa és la trisomia 12. Generalment es troba com a única alteració.

1.2. L'aplicació de la tècnica de FISH interfàsica és molt útil en la detecció de la trisomia 12, degut a la dificultat de fer entrar en divisió la cèl.lula leucèmica.

1.3. Només s'ha detectat la presència de del(13)(q14) en un dels casos estudiats, explicable per dues raons:

- a) no s'ha utilitzat la sonda adequada, ja que sembla que la regió que es delectona se situa més propera al telòmer.
- b) Aquesta alteració citogenètica no es troba associada a la LLC forma atípica.

1.3. L'afectació de 17p13 s'associa a una resposta pobra al tractament, progressió de la malaltia i supervivència escurçada, però no és específica d'aquesta patologia.

1.4. En cap dels casos estudiats es detecta la presència de la t(11;14)(q13;q32) ni de +3/+3q, però un cas presenta la del(7)(q32).

2. LCM

2.1. L'alteració citogenètica característica del LCM és la t(11;14)(q13;q32). Aquesta translocació no es troba en cap de les altres de les entitats estudiades.

2.2. La t(11;14) es detecta en un 60-70% dels casos estudiats per citogenètica convencional. Aquesta tècnica no és la millor per a detectar l'esmentada alteració, ja que, com es desprèn de la revisió bibliogràfica que s'ha dut a terme, la tècnica de FISH interfàsica és més sensible i permet detectar la t(11;14) en gairebé el 100% dels casos.

2.3. La major part de LCM presenten cariotips complexes.

2.4. Les alteracions secundàries afecten un nombre molt elevat de cromosomes, entre els quals destaca la pèrdua de 6/6q, no confirmat en la

nostra sèrie. Per una millor definició d'aquestes alteracions és necessari un estudi molt més ampli en nombre de casos.

2.5. L'afectació de 17p13 també es detecta associada a una ràpida evolució de la malaltia i supervivència escurçada.

2.6. La +3/+3q, així com la del(7)(q32) han estat detectades en el LCM.

3. LEZM

3.1. El LEZM és una patologia que es caracteritza per no tenir un marcador citogenètic exclusiu.

3.2. Les dues alteracions citogenètiques més associades a aquesta entitat són els guanys de 3/3q i les pèrdues de 7q, tot i no ser exclusives.

3.3. La trisomia 3 és característica dels limfomes marginals extraesplènics (LZMN i LMALT), en els quals es troba en una proporció més elevada que en el LEZM. Sembla que els LEZM presenten aquesta alteració en més baixa freqüència.

3.4. Les pèrdues de 7q, en concret de 7q31-q32, s'han detectat en diversos tipus de neoplàsies de cèl.lules B madures amb característiques limfoplasmocitoides. Sembla que la proporció de pèrdues de 7q31-q32 és més alta en el LEZM que en d'altres tipus de SLPC-B.

3.5. És freqüent trobar translocacions que afectin la regió 14q32, on es localitza el gen de la cadena pesada de les Ig, però en cap cas es detecta la t(11;14).

3.6. En cap cas no es detecta la trisomia 12, característica de la LLCa.

3.7. És necessari estudiar un nombre més elevat de casos per a definir correctament les alteracions citogenètiques característiques d'aquesta patologia.

- Les dades citogenètiques que s'obtenen d'aplicar la citogenètica convencional conjuntament amb les diverses tècniques d'HIS permeten una millor classificació de les entitats estudiades.

- La LBPP és una entitat que encara no se sap si és una neoplàsia de progressió lenta, o un fenomen reactiu. S'ha inclòs en l'estudi amb la intenció de fer esment de la seva existència i de la possibilitat de ser confosa amb alguna de les altres entitats.

6. BIBLIOGRAFIA

Adachi M, Cossmna J, Longo D, Croce CM, Tsujimoto Y (1989): Variant translocation of the bcl-2 gene to Ig in a chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 86: 2771-2774.

Adachi M, Tefferi A, Greipp PR, Kipps TJ, Tsujimoto Y (1990): Preferential linkage of bcl-2 to immunoglobulin light chain gene in chronic lymphocytic leukemia. *J Exp Med* 1171: 559-564.

Agrawal S, Matutes E, Voke J, Dyer MJS, Khokhar T, Catovsky D (1994): Persistent polyclonal B-cell lymphocytosis. *Leuk Res* 18: 791-795.

Anastasi J (1991) Interphase cytogenetic analysis in the diagnosis and study of neoplastic disorders. *Am J Clin Pathol* 95 (suppl 1): 2-28.

Anastasi J, Le Beau MM, Vardiman JW, Fernald AA, Larson RA, Rowley JD (1992): Detection of trisomy 12 in chronic lymphocytic leukemia by fluorescence in situ hybridization to interphase cells: a simple and sensitive method. *Blood* 79: 1796-1801.

Arif M, Tanaka K, Asou H, Ohno R, Kamada N (1995): Independent clones of trisomy 12 and retinoblastoma gene deletion in Japanese B cell chronic lymphocytic leukemia, detected by fluorescence in situ hybridization. *Leukemia* 9: 1822-1827.

Argatoff LH, Connors JM, Klasa RJ, Horsman DE, Gascoyne RD (1997): Mantle cell lymphoma: a clinicopathologic study of 80 cases. *Blood* 89: 2067-2078.

Arnold A, Kim HG, Gaz RD, Eddy RL, Fukushima Y, Byers MG, Shows TB, Kronenberg HM (1989): Molecular cloning and chromosomal mapping of DNA rearranged with the parathyroid hormone gene in a parathyroid adenoma. *J Clin Invest* 83: 2034-2040.

Autio K, Turunen O, Penttilä O, Erämaa E, de la Chapelle A, Schröder J (1979): Human chronic lymphocytic leukemia: karyotypes in different lymphocyte populations. *Cancer Genet Cytogenet* 1: 147-155.

Autio K, Elonen E, Teerenhovi L, Knuutila S (1986): Cytogenetic and immunologic characterization of mitotic cells in chronic lymphocytic leukemia. *Eur J Haematol* 39: 289-298.

Baldin V, Lukas J, Marcote MJ, Pagano M, Draetta G (1993): Cyclin D1 is a nuclear protein required for cell cycle progression in G1. *Genes Dev* 7: 812-821.

Banks PM, Chan J, Cleary ML, Delsol G, De Wolf-Peeters C, Gatter K, Grogan TM, Harris NL, Isaacson PG, Jaffe ES, Mason D, Pileri S, Ralfkiaer E, Stein H, Warnke RA (1992): Mantle cell lymphoma. A proposal for unification of morphologic, immunologic and molecular data. *AM J Surg Pathol* 16: 637-640.

Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DAG, Gralnick HR, Sultan C (1989): The French-American-British (FAB) Cooperative Group: proposals for the classification of chronic (mature) B and T lymphoid leukaemias. *J Clin Pathol* 42: 567-584.

Bentz M, Plesch A, Stilgenbauer S, Döhner H, Lichter P (1998): Minimal sizes of deletions detected by comparative genomic hybridization. *Genes Chrom Cancer* 21: 172-175.

Berard CW, Dorfman RF (1974): Histopathology of malignant lymphomas. *Clin Haematol* 3: 39-76.

Bigoni R, Negrini M, Veronese ML, Cuneo A, Castoldi GL, Croce CM (1996): Characterization of t(11;14) translocation in mantle cell lymphoma by fluorescent in situ hybridization. *Oncogene* 13: 797-802.

Bigoni R, Cuneo A, Roberti MG, Bardi A, Rigolin GM, Piva N, Scapoli G, Spanedda R, Negrini M, Bullrich F, Veronese ML, Croce CM, Castoldi GL (1997): Chromosome aberrations in atypical chronic lymphocytic leukemia: a cytogenetic and interphase cytogenetic study. *Leukemia* 11: 1933-1940.

Bird ML, Ueshima Y, Rowley JD, Haren JM, Vardiman JW (1989): Chromosome abnormalities in B cell chronic lymphocytic leukemia and their clinical correlations. *Leukemia* 3: 182-191.

de Boer CJ, Van Krieken JH, Kluin-Nelemans HC, Kluin PM, Schuurin E (1995a): Cyclin D1 messenger RNA overexpression as a marker for mantle cell lymphoma. *Oncogene* 10: 1833-1840.

de Boer CJ, Schuurin E, Dreef E, Peters G, Bartek J, Kluin PM, Van Krieken JH (1995b): Cyclin D1 protein analysis in the diagnosis of mantle cell lymphoma. *Blood* 86: 2715-2723.

Bosch F, Jares P, Campo E, Lopez-Guillermo A, Piris MA, Villamor N, Tassies D, Jaffe ES, Montserrat E, Rozman C, Cardesa A (1994): PRAD-1/cyclin D1 gene overexpression in chronic lymphoproliferative disorders: a highly specific marker of mantle cell lymphoma. *Blood* 84: 2726-2732.

Bouyge-Moreau I, Rondeau G, Avet-Loiseau H, André MT, Bézieau S, Chérel M, Saleün S, Cadoret E, Shaikh T, De Angelis MM, Arcot S, Batzer M, Moisan JP, Devilder MC (1997): Construction of a 780-Kb PAC, BAC, and cosmid contig encompassing the minimal critical deletion involved in B cell chronic lymphocytic leukemia at 13q14.3. *Genomics* 46: 183-190.

Brito-Babapulle V, Ellis J, Matutes E, Oscier DG, Khokhar T, MacLennan K, Catovsky D (1992): Translocation t(11;14)(q13;q32) in chronic lymphoid disorders. *Genes Chrom Cancer* 5: 158-165.

Brown AG, Ross FM, Dunne EM (1993): Evidence for a new tumor suppressor locus (DBM) in human B-cell neoplasia telomeric to the retinoblastoma gene. *Nat Genet* 3: 67-72.

Brynes RK, Almaguer PD, Leathery KE, McCourty A, Arber DA, Medeiros LJ, Nathwani BN (1996): Numerical cytogenetic abnormalities of chromosomes 3, 7, and 12 in marginal zone B-cell lymphomas. *Mod Pathol* 9: 995-1000.

Bueso-Ramos CE, Yang Y, de Leon E, McCown P, Stass SA, Albitar M (1993): The human MDM2 oncogene is overexpressed in leukemias. *Blood* 82: 2617-2623.

Bullrich F, MacLachlan TK, Sang N, Druck T, Veronese ML, Allen SL, Chiorazzi N, Koff A, Heubner K, Croce CM (1995): Chromosomal mapping of members of the cdc2 family of protein kinases, cdk3, cdk6, PISSLRE, and PITALRE, and a cdk inhibitor, p27Kip1, to regions involved in human cancer. *Cancer Res* 55: 1199-1205.

Bullrich F, Negrini M, Croce CM (1999): Molecular genetics of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 94 (suppl. 2): 255-258.

Callet-Bauchu E, Salles G, Gazzo S, Poncet C, Morel D, Pagès J, Coiffier B, Coeur P, Felman P (1999): Translocations involving the short arm of chromosome 17 in chronic B-lymphoid disorders: frequent occurrence of dicentric rearrangements and possible association with adverse outcome. *Leukemia* 13: 460-468.

Campo E, Raffeld M, Jaffe ES (1999): Mantle-cell lymphoma. *Semin Hematol* 36: 115-127.

Cassassus Ph, Lortholary P, Komarover H, Lejeune F, Hors J (1987): Cigarette smoking-related persistent polyclonal B lymphocytosis. *Arch Pathol Lab Med* 111: 1081.

Chapman RM, Corcoran MM, Gardiner A, Hawthorn LA, Cowell JK, Oscier DG (1994): Frequent homozygous deletions of the D13S25 locus in chromosome region 13q14 defines the location of a gene critical in leukaemogenesis in chronic B-cell lymphocytic leukaemia. *Oncogene* 9: 1289-1293.

Corcoran MM, Rasool O, Liu Y, Iyengar A, Grander D, Ibbotson RE, Merup M, Wu X, Brodyansky V, Gardiner AC, Juliusson G, Chapman RM, Ivanova G, Tiller M, Gahrton G, Yankovsky N, Zabarovsky E, Oscier DG, Einhorn S (1998): Detailed molecular delineation of 13q14.3 loss in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 91: 1382-1390.

Corcoran MM, Mould SJ, Orchard JA, Ibbotson RE, Chapman RM, Boright AP, Platt C, Tsui LC, Scherer SW, Oscier DG (1999): Dysregulation of cyclin dependent kinase 6 expression in splenic marginal zone lymphoma through chromosome 7q translocations. *Oncogene* 18: 6271-6277.

Crawford DH, Catovsky D (1993): In vitro activation of leukaemia B cells by interleukin-4 and antibodies to CD40. *Immunology* 80: 40-44.

Cremer T, Landegent J, Brueckner A, Scholl H, Hager H, Devilee P, Pearson P, Van der Ploeg M (1986): Detection of chromosome aberration in the human interphase nucleus by visualization of specific target of DNAs with radioactive and non-radioactive in situ hybridization techniques: diagnosis of trisomy 18 with probe L1.84" *Human Genet* 74: 346-352.

Criel A, Wlodarska I, Meeus P, Stul M, Louwagie A, Van Hoof A, Hidajat M, Mecucci C, Van den Berghe H (1994): Trisomy 12 is uncommon in typical chronic lymphocytic leukaemias. *Br J Haematol* 87: 523-528.

Criel A, Verhoef G, Vlietinck R, Mecucci C, Billiet J, Michaux L, Meeus P, Louwagie M, Van den Berghe H, De Wolf-Peters C (1997): Further characterization of morphologic defined typical and atypical CLL: a clinical, immunophenotypic, cytogenetic and prognostic study on 390 cases. *Br J Haematol* 97:383-391.

Cuneo A, Balboni M, Piva N, Rigolin GM, Roberti MG, Mejak C, Moretti S, Bigoni R, Balsamo R, Cavazzini P, Castoldi G (1995): Atypical chronic lymphocytic leukaemia with t(11;14)(q13;q32): karyotype evolution and prolymphocytic transformation. *Br J Haematol* 90: 409-416.

Cuneo A, Bigoni R, Roberti MG, Bardi A, Rigolin GM, Agostini P, Milani R, Cavazzini F, De Angeli C, Castoldi G (2000): Cytogenetic and molecular cytogenetic features of non-Hodgkin's lymphoma of lymphoid follicle origin (follicle center cell and mantle cell). *Haematologica* 85 (Sup. 2): 251-254.

Damle RN, Wasil T, Fais F, Ghiotto F, Valetto A, Allen SL, Buchbinder A, Budman D, Dittmar K, Kolitz J, Lichtman SM, Schulman P, Vinciguerra VP, Rai KR, Ferrarini M, Chiorazzi N (1999): Ig V gene mutation status and CD38 expression as a novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 94: 1840-1847.

Damle RN, Wasil T, Allen SL, Schulman P, Rai KR, Chiorazzi N, Ferrarini M (2000): Updated data on V gene mutation status and CD38 expression in B-CLL. *Blood* 95: 2456-2457.

Delage R, Roy J, Jacques L, Bernier V, Delage JM, Darveau A (1997): Multiple bcl-2/Ig gene rearrangements in persistent polyclonal B-cell lymphocytosis. *Br J Haematol* 97: 589-595.

Delannoy A, Djian D, Wallef G, Deneys V, Fally P, Martiat P, Michaux JL (1993): Cigarette smoking and chronic polyclonal B-cell lymphocytosis. *Nouv Rev Fr Hematol* 35: 141-144.

Dewald GW, Kyle RA, Hicks GA, Greipp PR (1985): The clinical significance of cytogenetic studies in 100 patients with multiple myeloma, plasma cell leukemia or amyloidosis. *Blood* 66: 380-390.

Dierlamm J, Michaux L, Wlodarska I, Pittaluga S, Zeller W, Stul M, Criel A, Thomas J, Boogaerts M, Delaere P, Cassiman J-J, De Wolf-Peeters C, Mecucci C, Van den Berghe H (1996a): Trisomy 3 in marginal zone B-cell lymphoma: a study based on cytogenetic analysis and fluorescence in situ hybridization (FISH). *Br J Haematol* 93: 242-249.

Dierlamm J, Pittaluga S, Wlodarska I, Stul M, Thomas J, Boogaerts M, Michaux L, Driessen A, Mecucci C, Cassiman J-J, De Wolf-Peeters C, Van den Berghe H (1996b): Marginal zone B-cell lymphomas of different sites share similar cytogenetic and morphologic features. *Blood* 87: 299-307.

Döhner H, Pohl S, Bulgay-Mörschel M, Stilgenbauer S, Bentz M, Lichter P (1993): Detection of trisomy 12 in chronic lymphoid leukemias using fluorescence in situ hybridization. *Leukemia* 7: 516-520.

Döhner H, Pilz T, Fischer K, Cabot G, Diehl D, Fink T, Stilgenbauer S, Bentz M, Lichter P (1994): Molecular cytogenetic analysis of Rb-1 deletions in chronic B-cell leukemias. *Leuk Lymphoma* 16: 97-103.

Döhner H, Fischer K, Bentz M, Hansen K, Benner A, Cabot G, Diehl D, Schlenk R, Coy J, Stilgenbauer S, Volkmann M, Galle PR, Poutska A, Hunstein W, Lichter P (1995): p53 gene deletion predicts for poor survival and non-response to therapy with purine analogs in chronic B-cell leukemias. *Blood* 85: 1580-1589.

Döhner H, Stilgenbauer S, James MR, Benner A, Weilguni T, Bentz M, Fischer K, Hunstein W, 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: 2516-2522.

Döhner H, Stilgenbauer S, Döhner K, Bentz M, Lichter P (1999): Chromosome aberrations in B-cell chronic lymphocytic leukemia: reassessment based on molecular cytogenetic analysis. *J Mol Med* 77: 226-281.

Döhner H, Stilgenbauer S, Benner A, Leupolt E, Kröber A, Bullinger L, Döhner K, Bentz M, Lichter P (2000): Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic leukemia. *N Eng J Med* 343: 1910-1916.

Donner LR (1997): Cytogenetics of lymphomas: a brief review of its theoretical practical significance. *Cancer Genet Cytogenet* 92: 20-26.

Dorfman DM, Pinkus GS (1994): Distinction between small lymphocytic and mantle cell lymphoma by immunoreactivity for CD23. *Mod Pathol* 7: 326-331.

Du MQ, Diss TC, Xu CF, Wotherspoon AC, Isaacson PG, Pan LX (1997): Ongoing immunoglobulin gene mutations in mantle cell lymphomas. *Br J Haematol* 96: 124-131.

Dyer MJS, Zani VJ, Lu WZ, O'Byrne A, Mould S, Chapman R, Heward JM, Kayano H, Jadayel D, Matutes E, Catovsky D, Oscier DG (1994): BCL2 translocations in leukemias of mature B cells. *Blood* 83: 3682-3688.

Einhorn S, Burvall K, Juliusson G, Gahrton G, Meeker T (1989): Molecular analysis of chromosome 12 in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 3: 871-874.

El Rouby S, Thomas A, Costin D, Rosenberg CR, Potmesil M, Silber R, Newcomb EW (1993): p53 gene mutation in B-cell chronic lymphocytic leukemia is associated with drug resistance and is independent of MDR1/MDR3 gene expression. *Blood* 82: 3452-3459.

Escudier SM, Pereira-Leahy JM, Drach JW, Weier HU, Goodacre AM, Cork MA, Trujillo JM, Keating MJ, Andreeff M (1993): Fluorescence in situ hybridization and cytogenetic studies of trisomy 12 in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 81: 2702-2707.

Espinet B, Solé F, Vallespí T, Lloveras E, Colomer D, Campo E, Pérez-Vila E, Blanco A, Pedro C, Besses C, Sans-Sabrafen J, Woessner S, Florensa L (1999): Translocacion t(14;18)(q32;q21) y t(18;22)(q21;q11) en pacientes afectos de leucemia linfatica cronica-B (LLC-B) con morfologia atípica. *Haematologica* 84 (suppl.2): 98.

Fanboin L, Satz L (1994): Introducción a la inmunología humana. Mosby/Doyma. Barcelona.

Fegan C, Robinson H, Thompson P, Whittaker JA, White D (1995): Karyotypic evolution in CLL. Identification of a new subset of patients with deletions of 11q and advanced or progressive disease. *Leukemia* 9: 2003-2008.

Fenaux P, Preudhomme C, La JL, Quiquandon I, Jovenaux P, Vanrumbeke M, Sartiaux C, Morel P, Loucheux-Lefebvre MH, Bauters F, Berger R, Kerckaert P (1992): Mutations of p53 gene in B-cell chronic lymphocytic leukemia: a report on 39 cases with cytogenetic analysis. *Leukemia* 6 246-250.

Fisher RI (1999): Mantle cell lymphoma: prognostic factors and treatment results. *Blood* 94 (suppl. 2): 325-328.

Fisher RI, Dahlberg S, Nathwani BN, Banks PM, Miller TP, Grogan TM (1995): A clinical analysis of two indolent lymphoma entities: mantle cell lymphoma and marginal zone lymphoma (including the mucosa-associated lymphoid tissue and monocytoid B-cell subcategories): a Southwest Oncology Group study. *Blood* 85: 1075-1082.

Fitchett M, Griffiths MJ, Oscier DG, Johnson S, Seabright M (1987): Chromosome abnormalities involving band 13q14 in hematologic malignancies. *Cancer Genet Cytogenet* 24: 143-150.

Frizzera G, Sakurai M, Notohara K, Konishi H (1991): t(11;14)(q13;q32) in B-cell lymphomas (intermediately differentiated lymphocytic and follicular): a report of four cases. *Am J Clin Pathol* 95: 684-691.

Gahrton G, Robèrt KH, Friberg K, Zech L, Bird AG (1980a): Non-random chromosomal aberrations in chronic lymphocytic leukemia revealed by polyclonal B-cell-mitogen stimulation. *Blood* 56: 640-647.

Gahrton G, Robèrt KH, Friberg K, Zech L, Bird AG (1980b): Extra chromosome 12 in chronic lymphocytic leukaemia. *Lancet* I: 146-147.

Gahrton G, Robèrt KH, Friberg K, Juliusson G, Biberfeld P, Zech L (1982): Cytogenetic mapping of the duplicated segment of chromosome 12 in lymphoproliferative disorders. *Nature* 297: 513-514.

Gaidano G, Ballerini P, Gong JZ, Inghirami G, Neri A, Newcomb EW, Magrath IT, Knowles DM, Dalla-Favera R (1991): p53 mutations in human lymphoid malignancies: association with Burkitt lymphoma and chronic lymphocytic leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 88: 5413-5417.

Gaidano G, Newcomb EW, Gong JZ, Tassi V, Neri A, Cortelezzi A, Calori R, Baldini L, Dalla-Favera R (1994): Analysis of alterations of oncogenes and tumor suppressor genes in chronic lymphocytic leukemia. *Am J Pathol* 144: 1312-1319.

Gall EA, Mallory TB (1942): Malignant Lymphoma. A clinicopathologic survey of 618 cases. *Am J Pathol* 18: 381-429.

Gallart T, Vives J, López-Botet M (2000): Órganos y células del sistema inmunitario. A: Medicina Interna, Farreras y Rozman, eds. 14^a edició. Ed. Hartcourt Brace. Barcelona.

García-Marco JA, Caldas C, Price CM, Wiedemann LM, Ashworth A, Catovsky D (1996): Frequent somatic deletion of the 13q12.3 locus encompassing BRCA2 in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 88: 1568-1575.

Geisler CH, Philip P, Egelund Christensen B, Hou-Jensen K, Tinggaard Pedersen N, Myhre Jensen O, Thorling K, Andersen E, Birgens HS, Drivsholm A, Ellegard J, Larsen JK, Plesner T, Brown P, Kragh Andersen P, Mørk Hansen 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. *Leuk Res* 21: 1011-1023.

Gordon DS, Jones BM, Browning SW, Spira TJ, Lawrence DN (1982): Persistent polyclonal lymphocytosis of B lymphocytes. *N Engl J Med* 307: 232-236.

Gottlieb TM, Oren M (1998): p53 and apoptosis. *Semin Cancer Biol* 8: 359-368.

Greiner TC, Moynihan MJ, Chan WC, Lytle DM, Pedersen A, Anderson JR, Weisenburger DD (1996): p53 mutations in mantle cell lymphoma are associated with variant cytology and predict a poor prognosis. *Blood* 87: 4302-4310.

Gruszka-Westwood AM, Matutes E, Coignet LJA, Wotherspoon A, Catovsky D (1999): The incidence of trisomy 3 in splenic lymphoma with villous lymphocytes: a study by FISH. *Br J Haematol* 104: 600-604.

Hamblin TJ, Davis Z, Gardiner A, Oscier DG, Stevenson FK (1999): Unmutated Ig V_H genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 94: 1848-1854.

Hamblin TJ, Orchard JA, Gardiner A, Oscier DG, Davis Z, Stevenson FK (2000): Immunoglobulin V genes and CD38 expression in CLL. *Blood* 95: 2455-2456.

Harris NL, Jaffe ES, Stein H, Banks PM, Chan JKC, Cleary ML, Delsol G, De Wolf-Peeters C, Falini B, Gatter KC, Grogan TM, Isaacson PG, Knowles DM, Mason DY, Müller-Hermelink H-K, Pileri SA, Piris MA, Ralfkiaer E, Warnke RA (1994): A revised European-American Classification of lymphoid neoplasms: A proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood* 84 (5): 1361-1392.

Harris NL (1999): Anatomy and biology of lymphocyte differentiation. Tutorial on neoplastic hematopathology, pp. 1-20. Miami, Florida.

Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, Flandrin G, Müller-Hermelink H-K, Vardiman J, Lister TA, Bloomfield CD (1999): World health Organization classification of neoplastic diseases of the hematopoietic and lymphoid tissues: report of the clinical advisory committee meeting-Airlie House, Virginia, November 1997. *J Clin Oncol* 17: 3835-3849.

Heim S, Mitelman F (1995): *Cancer cytogenetics*. 2nd ed. Alan R. Liss, Inc.N.Y.

Hernandez JM, Mecucci C, Criel A, Meeus P, Michaux L, Van Hoof A, Verhoef G, Louwagie A, Scheiff JM, Michaux JL, Boogaerts M, Van den Berghe H (1995): Cytogenetic analysis of B cell chronic lymphocytic leukemias classified according to morphologic and immunophenotypic (FAB) criteria. *Leukemia* 9: 2140-2146.

Hernández JM, Solé F, Arranz E, Sánchez MA, Granada I, Espinet B, García JL, Tabernero MD, Benítez J, Rios A, Woessner S (1997a): Registro nacional de los estudios citogenéticos y de hibridación in situ en los síndromes linfoproliferativos de estirpe B: valor diagnóstico. *Haematologica* 82 (Sup1): 227-232.

Hernández JM, Mecucci C, Michaux L, Criel A, Stul M, Meeus P (1997b): del(7q) in chronic-B cell lymphoproliferative disorders: del(7)(q32). *Cancer Genet Cytogenet* 93: 147-152.

Hernandez L, Fest T, Cazorla M, Teruya-Feldstein J, Bosch F, Peinado MA, Piris MA, Montserrat E, Cardesa A, Jaffe ES, Campo E, Raffeld M (1996): p53 gene mutations and protein overexpression are associated with aggressive variants of mantle cell lymphomas. *Blood* 87: 3351-3359.

Hopman A, Ramaekers F, Raap A, Beck J, Devilee P, Van der Ploeg M, Vooijs G (1988): In situ hybridization as a tool to study numerical chromosome aberrations in solid bladder tumors. *Histochemistry* 89:307-316.

Houldsworth J, Chaganti RSK (1994): Comparative genomic hybridization: an overview. *Am J Pathol* 145: 1253-1256.

Hummel M, Tamaru J, Kalvelage B, Stein H (1994): Mantle cell (previously centrocytic) lymphomas express VH genes with no or very little somatic mutations like the physiologic cells of the follicle mantle. *Blood* 84: 403-407.

Hurley JN, Fu SM, Kunkel HG, Chaganti RSK, German J (1980): Chromosome abnormalities of leukaemic B lymphocytes in chronic lymphocytic leukaemia. *Nature* 283: 76-78.

International Workshop on Chronic Lymphocytic Leukemia (1989): Chronic lymphocytic leukemia: recommendations for diagnosis, staging, and response criteria. *Ann Intern Med* 110: 236-238.

Isaacson PG, Matutes E, Burke M, Catovsky D (1994): The histopathology of splenic marginal lymphoma with villous lymphocytes. *Blood* 84: 3828-3834.

Isaacson PG, Piris MA (1997): Splenic marginal zone lymphoma. *Adv Anat Pathol* 4: 191-201.

Isaacson PG (1999): Splenic marginal zone B cell lymphoma. A: Human lymphoma: clinical implications of the REAL classification. DY Mason i NL Harris eds. Springer-Verlag, London, pp. 7.1-7.6.

Jaffe ES, Campo E, Raffeld M (1999): Mantle cell lymphoma: biology and diagnosis. *Blood* 94 (suppl. 2): 319-325.

James MR, Richard III CW, Schott JJ, Yousry C, Clark K, Bell J, Terwilliger JD, Hazan J, Dubay C, Vignal A, Agrapart M, Imai T, Nakamura Y, Polymeropoulos M, Weissenbach J, Cox DR, Lathrop GM (1994): A radiation hybrid map of 506 STS markers spanning human chromosome 11. *Nat Genet* 6: 70-76.

Jares P, Campo E, Pinyol M, Bosch F, Miquel R, Fernández PL, Sanchez-Beato M, Solé F, Pérez-Losada A, Nayach I, Mallofré C, Piris MA, Montserrat E, Cardesa A (1996): Expression of retinoblastoma gene product (pRb) in mantle cell lymphomas. Correlation with cyclin D1 (PRAD1/CCND1) mRNA levels and proliferative activity. *Am J Pathol* 148: 1591-1600.

Jadayel D, Matutes E, Dyer M, Brito-Babapulle V, Khohkar MT, Oscier DG, Catovsky D (1994): Splenic lymphoma with villous lymphocytes: analysis of bcl-1 rearrangements and expression of the cyclin D1 gene. *Blood* 83: 3664-3671.

Johansson B, Mertens F, Mitelman F (1993): Cytogenetic deletion maps of hematologic neoplasms: circumstantial evidence for tumor suppressor loci. *Genes Chrom Cancer* 8: 205-218.

Juliusson G, Gahrton G (1990): Chromosome aberrations in B-cell chronic lymphocytic leukemia. Pathogenetic and clinical implications. *Cancer Genet Cytogenet*, 45:143-160.

Juliusson G, Oscier DG, Fitchett M, Ross FM, Stockdill G, Mackie MJ, Parker AC, Castoldi GL, Cuneo A, Knuutila S, Elonen E, Gahrton G (1990): Prognostic subgroups in B-cell chronic lymphocytic leukemia defined by specific chromosomal abnormalities. *N Eng J Med* 323:720-724.

Juliusson G, Oscier DG, Gahrton G, for the International Working Party on Chromosomes in CLL (IWCCLL) (1991): Cytogenetic findings and survival in B-cell chronic lymphocytic leukemia. Second IWCCLL compilation of data on 662 patients. *Leuk Lymphoma* 5: 21-25.

Kalachikov S, Migliazza A, Cayanis E, Fracchiolla NS, Bonaldo MF, Lawton L, Jelenc P, Ye X, Qu X, Chien M, Hauptschein R, Gaidano G, Vitolo U, Saglio G, Resegotti L, Brodjansky V, Yankovsky N, Zhang P, Soares MB, Russo J, Edelman IS, Efstratiadis A, Dalla-Favera R, Fischer SG (1997): Cloning and gene mapping of the chromosome 13q14 region deleted in chronic lymphocytic leukemia. *Genomics* 42: 369-377.

Kallioniemi A, Kallioniemi OP, Sudar D, Rutovitz D, Gray JW, Waldman F, Pinkel D (1992): Comparative genomic hybridization for molecular cytogenetic analysis of solid tumors. *Science* 258: 818-821.

Kallioniemi OP, Kallioniemi A, Piper J, Isola J, Waldman F, Gray JW, Pinkel D (1994): Optimizing comparative genomic hybridization for analysis of DNA sequence copy number changes in solid tumors. *Genes Chrom Cancer* 10: 231-243.

Kapanadze B, Kashuba V, Baranova A, Rasool O, Van Everdink W, Liu Y, Syomov A, Corcoran M, Poltaraus A, Brodyansky V, Syomova N, Kazakov A, Ibbotson R, Van den Berg A, Gizatullin R, Fedorova L, Sulimova G, Zelenin A, Deaven L, Lehrach H, Grander D, Buys C, Oscier DG, Zabarovsky ER, Yankovsky N (1998): A cosmid and c-DNA fine physical map of a human chromosome 13q14 region frequently lost in B-cell chronic lymphocytic leukemia and identification of a new putative tumor suppressor gene, Leu5. *FEBS* 426: 226-270.

Klein U, Rajewski K, Küppers R (1998): Human immunoglobulin Ig M+/IgD+ peripheral blood B-cells expressing the CD27 cell surface antigen carry somatically mutated variable region genes: CD27 as a general marker for somatically mutated (memory) B-cells. *J Exp Med* 188:1679-1689.

Knudson AG Jr (1971): Mutation and cancer: statistical study of retinoblastoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 68, 820-823.

Komatsu H, Lida S, Yamamoto K, Mikuni C, Nitta M, Takahashi T, Ueda R, Seto M (1994): A variant chromosome translocation at 11q13 identifying PRAD1/Cyclin D1 as the BCL-1 gene. *Blood* 84: 1226-1231.

Kumar S, Green GA, Teruya-Feldstein J, Raffeld M, Jaffe ES (1996): Use of CD23 (BU38) on paraffin sections in the diagnosis of small lymphocytic lymphoma and mantle cell lymphoma. *Mod Pathol* 9: 925-929.

Küppers R, Klein U, Hansmann ML, Rajewski K (1999): Cellular origin of human B-cell lymphomas. *N Engl J Med* 341: 1520-1529.

Lalkin A, Lishner M, Gaber E, Manor Y, Fejgin M, Ravid M, Amiel A (1993): In situ hybridization: a simple sensitive method for detection of trisomy 12 in chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Genet Cytogenet* 70:21-24.

Lane DP (1992): p53, guardian of the genome. *Nature* 358:15-16.

Lardelli P, Bookman MA, Sundeen J, Longo DL, Jaffe ES (1990): Lymphocytic lymphoma of intermediate differentiation. Morphologic and immunophenotypic spectrum and clinical correlations. *Am J Surg Pathol* 14: 752-763.

Lawlor E, Murray M, O'Brian DS, Blaney C, Foroni L, Sarsfield P, Condell D, Sullivan F, McCann SR (1991): Persistent polyclonal B lymphocytosis with Epstein-Barr virus antibodies and subsequent malignant pulmonary blastoma. *J Clin Pathol* 44: 341-342.

Lennert K, Mohri N, Stein H, Kaiserling E (1975): The histopathology of malignant lymphoma. *Br J Haematol* 31 (suppl): 193-203.

Leroux D, Le Marc'hadour F, Gressin R, Jacob MC, Keddari E, Monteil M, Caillot P, Jalbert P, Sotto JJ (1991): Non-Hodgkin's lymphomas with t(11;14)(q13;q32): a subset of mantle zone/intermediate lymphocytic lymphoma? *Br J Haematol* 77: 346-353.

Lichter P, Bentz M, Joos S (1995): Detection of chromosomal aberrations by means of molecular cytogenetics: painting of chromosomes and chromosomal subregions and comparative genomic hybridization. *Methods Enzimol* 254:334-359.

Lichter P, Stilgenbauer S, Idler I, Scheuermann M, Döhner H, Schaffner C (1999): Inactivation of the ATM gene in lymphoproliferative disorders. VIII International Workshop on CLL. Programme and abstracts book: S07.

Linet MS, Blattner WA (1988): The epidemiology of chronic lymphocytic leukemia. A Polliack A, Catovsky D (eds). *Chronic Lymphocytic Leukemia*. Harwood Academic Publishers Chur, 11-32.

Liso V, Capalbo S, Lapietra A, Pavone V, Guarini A, Specchia G (1999): Evaluation of trisomy 12 by fluorescence in situ hybridization in peripheral blood, bone marrow and lymph nodes of patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Haematologica* 84: 212-217.

Liu Y, Grandér D, Söderhäll S, Juliusson G, Garthon G, Einhorn S (1992): Retinoblastoma gene deletions in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Genes Chrom Cancer* 4: 250-256.

Liu Y, Szekely L, Grandér D, Söderhäll S, Juliusson G, Garthon G, Linder S, Einhorn S (1993): Chronic lymphocytic leukemia cells with allelic deletions at 13q14 commonly have one intact RB1 gene: evidence for a role of an adjacent locus. *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 8697-8701.

Liu Y, Corcoran MM, Rasool O, Ivanova G, Ibbotson RE, Grandér D, Iyengar A, Baranova A, Kashuba V, Merup M, Wu X, Gardiner AC, Mullenbach R, Poltarauş A, Hultström AL, Juliusson G, Chapman RM, Tiller M, Cotter F, Gahrton G, Yankovsky N, Zabarovsky E, Einhorn S, Oscier DG (1997): Cloning of two candidate tumor suppressor genes within a 10 Kb region on chromosome 13q14, frequently deleted in chronic lymphocytic leukemia. *Oncogene* 15: 2463-2473.

Lo Coco F, Ye BH, Lista F, Corradini P, Offit K, Knowles DM, Chaganti RSK, Dalla-Favera R (1994): Rearrangements of the BCL6 gene in diffuse large cell non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 83: 1757-1759.

Louie DC, Offit K, Jaslow R, Parsa NZ, Murty VV, Schluger A, Chaganti RSK (1995): p53 overexpression as a marker of poor prognosis in mantle cell lymphomas with t(11;14)(q13;q32). *Blood* 86: 2892-2899.

Lukas J, Pagano M, Staskova Z, Draetta G, Bartek J (1994): Cyclin D1 protein oscillates and is essential for cell cycle progression in human tumor cell lines. *Oncogene* 9: 707-718.

Lukes R, Collins R (1974): Immunologic characterization of human malignant lymphomas. *Cancer* 34; 1488-1503.

Martínez-Climent JA (2000): Genética molecular de la leucemia linfática crónica B: implicaciones clínicas. *Haematologica* 85 (Sup. 2): 111-115.

Mateo MS, Mollejo M, Villuendas R, Algara P, Sanchez-Beato M, Martínez P, Piris MA (1999): 7q31-32 allelic loss is a frequent finding in splenic marginal zone lymphoma. *Am J Pathol* 154: 1583-1589.

Matsushime H, Roussel MF, Ashmun RA, Sherr CJ (1991): Colony-stimulating factor 1 regulates novel cyclins during the G1 phase of the cell cycle. *Cell*, 65: 701-713.

Matutes E, Owusu-Ankomah K, Morilla R, García-Marco JA, Houlihan A, Que TH, Catovsky D (1994a): The immunological profile of B-cell disorders and proposal of a scoring system for the diagnosis of CLL. *Leukemia* 8: 1640-1645.

Matutes E, Morilla R, Owusu-Ankomah K, Houlihan A, Catovsky D (1994b): The immunophenotype of splenic lymphoma with villous lymphocytes and its relevance to the differential diagnosis with other B-cell disorders. *Blood* 83: 1558-1562.

Matutes E (1996): Trisomy 12 in chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia Res* 5: 375-377.

Matutes E, Oscier DG, García-Marco JA, Ellis J, Copplestone A, Gillingham R, Hamblin T, Lens D, Swansbury GJ, Catovsky D (1996): Trisomy 12 defines a group of CLL with atypical morphology: correlation between cytogenetic, clinical and laboratory features in 544 patients. *Br J Haematol* 92: 382-388.

Melo JV, Hegde U, Parreira A, Thompson I, Lampert IA, Catovsky D (1987): Splenic B-cell lymphoma with circulating villous lymphocytes: differential diagnosis of B-cell leukaemias with large spleens. *J Clin Pathol* 40: 642-651.

Michaux L, Mecucci C, Stul M, Wlodarska I, Hernández JM, Meeus P, Michaux JL, Scheiff JM, Noël H, Louwagie A, Criel A, Boogaerts M, Van Orshoven A, Cassiman JJ, Van den Berghe H (1996): BCL3 rearrangements and t(14;19)(q32;q13) in lymphoproliferative disorders. *Genes Chrom Cancer* 15: 38-47.

Minot GP, Isaacs R (1924): Lymphatic leukemia. Age, incidence, duration and benefit derived from irradiation. *Boston Med Surg J* 191:1-4.

Mitelman F, Levan G (1978): Clustering of aberrations to specific chromosomes in human neoplasms. *Hereditas* 89: 207-232.

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

Mitelman F (1994): *Catalog of chromosome aberrations in cancer*. 6th Edition, Wiley-Liss. New York.

Monteil M, Callanan M, Dascalescu C, Sotto JJ, Leroux D (1996): Molecular diagnosis of t(11;14) in mantle cell lymphoma using two colour interphase fluorescence in situ hybridization. *Br J Haematol* 93: 656-660.

Montserrat E, Bosch F, Rozman C (1997): B-cell chronic lymphocytic leukemia: Recent progress in biology, diagnosis and therapy. *Ann Oncol* 8 (Sup. 1): 93-101.

Montserrat E (2000): *Leucemia linfática crónica*. A: *Hematología Clínica*, Sans-Sabrafen, ed., 4^a edició (en premsa). Ed. Hartcourt Brace. Barcelona.

Motokura T, Bloom T, Kim HG, Juppner H, Ruderman JV, Kronenberg HM, Arnold A (1991): A novel cyclin encoded bcl1-linked candidate oncogene. *Nature* 350: 512-515.

Müller H, Lukas J, Schneider A, Warthoe P, Bartek J, Eilers M, Strauss M (1994): Cyclin D1 expression is regulated by the retinoblastoma protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 2945-2949.

Müller S, Rocchi M, Ferguson-Smith MA, Wienberg J (1997a): Toward a multicolor chromosome bar code for the entire human karyotype by fluorescence in situ hybridization. *Hum Genet* 100 (2): 271-278.

Müller S, O'Brien PMC, Ferguson-Smith MA, Wienberg J (1997b): A novel source of highly specific chromosome painting probes for human karyotype analysis derived from primate homologues. *Hum Genet* 101: 149-153.

Mulligan SP, Matutes E, Dearden C, Catovsky D (1991): Splenic lymphoma with villous lymphocytes: natural history and response to therapy in 50 cases. *Br J Haematol* 78: 206-209.

Nanba K, Jaffe ES, Braylan RB, Soban EJ, Berard CW (1977): Alkaline phosphatase-positive malignant lymphoma. A subtype of B-cell lymphomas. *Am J Clin Pathol* 68: 535-542.

Neilson JR, Auer R, White D, Bienz N, Waters JJ, Whittaker JA, Milligan DW, Fegan CD (1997): Deletions at 11q identify a subset of patients with typical CLL who show consistent disease progression and reduced survival. *Leukemia* 11: 1929-1932.

Neiman RS, Sullivan AL, Jaffe R (1979): Malignant lymphoma stimulating leukaemic reticuloendotheliosis: clinicopathologic study of ten cases. *Cancer* 43: 329-342.

Newman RA, Peterson B, Davey FR, Brabyn C, Collins H, Brunetto VL, Duggan DB, Weiss RB, Royston I, Millard FE, Miller AA, Bloomfield CD (1993): Phenotypic markers and BCL1 rearrangements in B-cell chronic lymphocytic leukemia: a cancer and leukemia group B study. *Blood* 82: 1239-1246.

Offit K, Parsa NZ, Gaidano G, Filippa DA, Louie D, Pan D, Jhanwar SC, Dalla-Favera R, Chaganti RSK (1993): 6q deletions define distinct clinico-pathologic subsets of non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* 82: 2157-2162.

Offit K, Louie DC, Parsa NZ, Filippa DA, Gangi M, Siebert R, Chaganti RSK (1994): Clinical and morphologic features of B-cell small lymphocytic lymphoma with del(6)(q21q23). *Blood* 83: 2611-2618.

Oscier DG, Stevens J, Hamblin TJ, Pickering RM, Lambert R, Fitchett M (1990): Correlation of chromosome abnormalities with laboratory features and clinical course in B-cell chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol* 76: 352-358.

Oscier DG, Matutes E, Gardiner A, Glyde S, Mould S, Brito-Babapulle V (1993): Cytogenetic studies in splenic lymphoma with villous lymphocytes. *Br J Haematol* 85: 487-491.

Oscier DG (1994): Cytogenetic and molecular abnormalities in chronic lymphocytic leukaemia. *Blood Rev* 8: 88-97.

Oscier DG (1999): Trisomy 12 and the relevance of FISH. VIII International Workshop on CLL. Programme and abstracts book: S04.

Ott MM, Helbing A, Ott G, Bartek H, Fischer L, Durr A, Kreipe H, Müller-Hermelink HK (1996): bcl-1 rearrangement and cyclin D1 protein expression in mantle cell lymphoma. *J Pathol* 179: 238-242.

Ott G, Kalla J, Ott MM, Schryen B, Katzenberger T, Müller JG, Müller-Hermelink HK (1997): Blastoid variants of mantle cell lymphoma: frequent bcl-1 rearrangements at the major translocation cluster region and tetraploid chromosome clones. *Blood* 89: 1421-1429.

Panayiotidis P, Ganeshaguru K, Rowntree C, Jabbar SAP, Hoffbrand VA, Foroni L (1997): Lack of clonal BRCA2 gene deletion on chromosome 13 in chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol* 97: 844-847.

Pangalis GA, Angelopoulou MK, Vassilakopoulos TP, Siankaratis MP, Kittas C (1999): B-chronic lymphocytic leukemia, small lymphocytic lymphoma and lymphoplasmacytic lymphoma, including Waldenström macroglobulinemia: a clinical, morphologic, and biologic spectrum of similar disorders. *Semin Hematol* 36: 104-114.

Parente F, Gaudray P, Carle GF, Turc-Carel C (1997): Experimental assessment of the detection limit of genomic amplification by comparative genomic hybridization CGH. *Cytogenet Cell Genet* 78: 65-68.

Pérez-Losada A, Wessman M, Tiainen M, Hopman A, Willard H, Solé F, Caballín MR, Woessner S, Knuutila S (1991): Trisomy 12 in chronic lymphocytic leukemia: an interphase cytogenetic study. *Blood* 78:775-779.

Perreault C, Boileau J, Gyger M, de Bellefeuille C, D'Angelo G, Belanger R, Lacombe M, Lavallee R, Bonny Y, Paquin M, Brochu S (1989): Chronic B-cell lymphocytosis. *Eur J Haematol* 42: 361-367.

Peterson LC, Lindquist LL, Church S, Kay NE (1992): Frequent clonal abnormalities of chromosome band 13q14 in B-cell chronic lymphocytic leukemia: multiple clones, subclones, and monoclonal alterations in 82 Midwestern patients. *Genes Chrom Cancer* 4: 273-280.

Pinkel D, Straume T, Gray JW (1986): Cytogenetic analysis using quantitative, high sensitivity, fluorescence hybridization. *Proc Natl Acad Sci USA* 83: 2934-2938.

Pinyol M, Hernández L, Cazorla M, Balbín M, Jares P, Fernández PL, Montserrat E, Cardesa A, Lopez-Otín C, Campo E (1997): Deletions and loss of expression of P16^{INK4a} and P21^{Waf1} genes are associated with aggressive variants of mantle cell lymphomas. *Blood* 89: 272-280.

Piris MA, Mollejo M, Campo E, Menárguez J, Flores T, Isaacson PG (1998): A marginal zone pattern may be found in different varieties of non-Hodgkin's lymphoma: the morphology and immunohistology of splenic involvement by B-cell lymphomas simulating splenic marginal zone lymphoma. *Histopathology* 33: 230-239.

Pittaluga S, Verhoef G, Criel A, Maes A, Nuyts J, Boogaerts M, De Wolf Peeters C (1996): Prognostic significance of bone marrow trephine and peripheral blood smears in 55 patients with mantle cell lymphoma. *Leuk Lymphoma* 21: 115-125.

Pittaluga S, Tierens, Pinyol M, Campo E, Delabie J, De Wolf-Peeters C (1998): Blastic variant of mantle cell lymphoma shows a heterogeneous pattern of somatic mutations of the rearranged immunoglobulin heavy chain variable genes. *Br J Haematol* 102: 1301-1306.

Press OW, Grogan TM, Fisher RI (1996): Evaluation and management of mantle cell lymphoma. *Adv Leuk Lymph* 6: 3-XX.

Price CM (1993) Fluorescence in situ hybridization. *Blood Rev* 7: 127-134.

Que T, Garcia Marco J, Ellis J, Matutes E, Brito Babapulle V, Boyle S, Catovsky D (1993): Trisomy 12 in chronic lymphocytic leukemia detected by fluorescence in situ hybridization: analysis by stage, immunophenotype, and morphology. *Blood* 82: 571-575.

Quintanilla-Martinez L, Thieblemont C, Fend F, Kumar S, Pinyol P, Campo E, Jaffe ES, Raffeld M (1998): Mantle cell lymphomas lack expression of p27^{kip1}, a cyclin-dependent kinase inhibitor. *Am J Pathol* 153: 175-182.

Raffeld M, Jaffe ES (1991): bcl-1, t(11;14), and mantle cell derived neoplasms. *Blood* 78: 259-263.

Raghoebier S, Kibbelaar RE, Kleiverda K, Kluin-Nelemans JC, Van Krieken JHJM, Kok F, Kluin PM (1992): Mosaicism of trisomy 12 in chronic lymphocytic leukemia detected by non-radioactive in situ hybridization. *Leukemia* 6: 1220-1226.

Rappaport H (1966): Tumors of the hematopoietic system. Atlas of Tumor Pathology. Vol. Section III. Washington, D.C.: Armed Forces Institute of Pathology.

Rimokh R, Berger F, Delsol G, Charrin C, Bertheas MF, French M, Garoscio M, Felman P, Coiffier B, Bryon PA, Rochet M, Gentilhomme O, Germain D, Magaud JP (1993): Rearrangement and overexpression of the BCL-1/PRAD-1 gene in intermediate lymphocytic lymphomas and in t(11q13)-bearing leukemias. *Blood* 81: 3063-3067.

Robèrt KH, Möller E, Gahrton G, Eriksson H, Nilsson B (1978): B-cell activation of peripheral blood lymphocytes from patients with chronic lymphocytic leukaemia. *Clin Exp Immunol* 33: 302-308.

Roitt I, Brostoff J, Male D (1997): *Immunology*. 5th Edition, Mosby. Londres.

Rosenberg SA, Berard CW, Brown BW Jr, Burke J, Dorfman RF, Glatstein E, Hoppe RT, Simon R (1982): National Cancer Institute sponsored study of classification of non-Hodgkin's lymphomas. Summary and description of a Working Formulation for clinical usage. *Cancer* 49: 2112-2135.

Rosenberg CL, Wong E, Petty EM, Bale AE, Tsujimoto Y, Harris NL, Arnold A (1991): PRAD1, a candidate BCL1 oncogene: mapping and expression in centrocytic lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 88: 9638-9642.

Ross FM, Stockdill G (1987): Clonal chromosome abnormalities in chronic lymphocytic leukemia patients revealed by TPA stimulation of whole blood cultures. *Cancer Genet Cytogenet* 25: 109-121.

Rozman C, Montserrat E (1995): Chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 333: 1052-1057.

Sandberg A (1990): *The chromosomes in human cancer and leukemia*. 2nd edition. Ed. Elsevier.

Savilo E, Campo E, Mollejo M, Pinyol M, Piris MA, Zukerberg LR, Yang WI, Koelliker DD, Nguyen PL, Harris NL (1998): Absence of cyclin D1 protein expression in splenic marginal zone lymphoma. *Mod Pathol* 11: 601-606.

Schaffner C, Idler I, Stilgenbauer S, Döhner H, Lichter P (2000): Mantle cell lymphoma is characterized by inactivation of the ATM gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 2773-2778.

Schmid C, Kirkham N, Diss T, Isaacson PG (1992): Splenic marginal zone cell lymphoma. *Am J Surg Pathol* 15: 455-466.

Schröck E, du Manoir S, Veldman T, Schoell B, Wiemberg J, Ferguson-Smith MA, Ning Y, Ledbetter DH, Bar-Am I, Soenksen D, Garini Y, Ried T (1996): Multicolor spectral karyotyping of human chromosomes. *Science* 273: 494-497.

Serrano S, Sans-Sabrafen J, Besses C (2000): Linfomas malignos no hodgkinianos. Bases citoevolutivas y funcionales. Clasificación y descripción de sus distintas variedades. A: Hematología Clínica, Sans-Sabrafen, ed., 4ª edición (en prensa). Ed. Hartcourt Brace. Barcelona.

Seto MM, Yamamoto K, Iida S, Akao Y, Utsumi KR, Kubonishi I, Miyoshi I, Ohtsuki T, Yawata Y, Namba M, Motokura T, Arnold A, Takahashi T, Ueda R (1992): Gene rearrangement and overexpression of PRAD1 in lymphoid malignancy with t(11;14)(q13;q32) translocation. *Oncogene* 7: 1401-1406.

Sherr CJ (1996): Cancer cell cycles. *Science* 274: 1672-1677.

Solé F, Woessner S, Florensa L, Montero S, Asensio A, Besses C, Sans-Sabrafen J (1993): A new chromosomal anomaly associated with mature B-cell lymphoproliferative disorders. *Cancer Genet Cytogenet* 65: 170-172.

Spriano P, Barosi G, Invernizzi R, Ippoliti G, Fortunato A, Rosso R, Magrini U (1986): Splenomegalic immunocytoma with circulating hairy cells. Report of eight cases and revision of the literature. *Haematologica* 71: 25-33.

Stankovic T, Weber P, Stewart G, Bedenham T, Murray J, Byrd PJ, Moss PA, Taylor AM (1999): Inactivation of ataxia telangiectasia mutated gene in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Lancet* 353: 26-29.

Stilgenbauer S, Döhner H, Bulgay-Mörschel M, Weitz S, Bentz M, Lichter P (1993): High frequency of monoallelic retinoblastoma gene deletion in B-cell chronic lymphoid leukemia shown by interphase cytogenetics. *Blood* 81: 2118-2124.

Stilgenbauer S, Liebisch P, James MR, Schröder M, Schlegelberger B, Fischer K, Bentz M, Lichter P, Döhner H (1996a): Molecular cytogenetic delineation of a novel critical genomic region in chromosome bands 11q22.2-q23.1 in lymphoproliferative disorders. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 11837-11841.

Stilgenbauer S, Bullinger L, Schröder M, Benner A, Fischer K, Bentz M, Lichter P, Döhner H (1996b): Deletions of chromosome regions 6q21 and 6q27 in B-CLL detected by FISH: incidence and correlation with clinical parameters in 208 patients. *Blood* 88 (Sup. 1): 238a.

Stilgenbauer S, Schaffner C, Lichter P, Döhner H (1999a): Deletion of bands 11q22-q23 in B-CLL and other lymphoproliferative disorders. VIII International Workshop on CLL. Programme and abstracts book: S01.

Stilgenbauer S, Bullinger L, Benner A, Wildenberger K, Bentz M, Döhner K, Ho AD, Lichter P, Döhner H (1999b): Incidence and clinical significance of 6q deletions in B cell chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 13: 1331-1334.

Stilgenbauer S, Winkler D, Ott G, Schaffner C, Leupolt E, Bentz M, Moller P, Müller-Hermelink HK, James MR, Lichter P, Döhner H (1999c): Molecular characterization of 11q deletions points to a pathogenic role of the ATM gene in mantle cell lymphoma. *Blood* 94: 3262-3264.

Swerdlow SH, Yang WI, Zukerberg LR, Harris NL, Arnold A, Williams ME (1995): Expression of cyclin D1 protein in centrocytic/mantle cell lymphomas with and without rearrangement of the BCL-1/cyclin D1 gene. *Hum Pathol* 26: 999-1004.

Swerdlow SH, Zukerberg LR, Yang WI, Harris NL, Williams ME (1996): The morphologic spectrum of non-Hodgkin's lymphomas with BCL1/cyclin D1 gene rearrangements. *Am J Surg Pathol* 20: 627-640.

Swerdlow SH (1999): Small B-cell lymphomas of the lymph node and spleen: practical insights to diagnosis and pathogenesis. *Mod Pathol* 12: 125-140.

Taylor AMR, Metcalfe JA, Thick J, Mak YF (1996): Leukemia and lymphoma in ataxia telangiectasia. *Blood* 87: 423-438.

Teodorovic I, Pittaluga S, Kluin-Nelemans JC, Meerwaldt JH, Hagenbeek A, Van Glabbeke M, Somers R, Bijnens L, Noordijk EM, Peeters CD (1995): Efficacy of four different regimens in 64 mantle-cell lymphoma cases: clinicopathologic comparison with 498 other non-Hodgkin's lymphoma subtypes. European Organization for the Research and Treatment of Cancer Lymphoma Cooperative Group. *J Clin Oncol* 13: 2819-2826.

Troussard X, Valensi F, Debert C, Maynadie M, Schillinger F, Bonnet P, Macintyre EA, Flandrin G (1994): Persistent polyclonal lymphocytosis with binucleated B lymphocytes: a genetic predisposition. *Br J Haematol* 88: 275-280.

Troussard X, Flandrin G (1996): Chronic B-cell lymphocytosis with binucleated lymphocytes (LWBL): a review of 38 cases. *Leuk lymph* 20: 275-279.

Troussard X, Mauvieux L, Radford-Weiss I, Rack K, Valensi F, Garand R, Vekemans M, Flandrin G, Macintyre EA (1998): Genetic analysis of splenic lymphoma with villous lymphocytes: a Groupe Français d'Hématologie Cellulaire (GFHC) study. *Br J Haematol* 101: 712-721.

Tsujimoto Y, Yunis J, Onorato-Showe L, Erikson J, Nowell PC, Croce CM (1984): Molecular cloning of the chromosomal breakpoint of B-cell lymphomas and leukemias with the t(11;14) chromosome translocation. *Science* 224: 1403-1406.

Turk W (1903): Ein System der Lymphomatosen. Wien Klin Wochenschr 16:1073.

Vaandrager JW, Schuurin E, Zwikstra E, de Boer CJ, Kleiverda KK, Van Krieken JH, Kluin-Nelemans HC, Van Ommen GJ, Raap AK, Kluin PM (1996): Direct visualization of dispersed 11q13 chromosomal translocations in mantle cell lymphoma by multicolor DNA fiber fluorescence in situ hybridization. Blood 88: 1177-1182.

Van den Berghe H, Parloir C, David G, Michaux JL, Sokal M (1979): A new characteristic karyotypic anomaly in lymphoproliferative disorders. Cancer 44: 188-195.

Vandenbergh E, De Wolf-Peeters C, Van den Oord J, Wlodarska I, Delabie J, Stul M, Michaux JL, Mecucci C, Cassiman J-J, Van den Berghe H (1991): Translocation t(11;14): a cytogenetic anomaly associated with B-cell lymphomas non-follicle center cell lineage. J Pathol 163: 13-16.

Vasef MA, Medeiros LJ, Yosur LS, Sun NC, McCourty A, Brynes RK (1997): Cyclin D1 protein in multiple myeloma and plasmacytoma: an immunohistochemical study using fixed, paraffin-embedded tissue sections. Mod Pathol 10: 927-932.

Veldman T, Viagon C, Schröck E, Rowley JD, Ried T (1997): Hidden chromosome abnormalities in haematological malignancies detected by multicolor spectral karyotyping. Nat Genet 15: 406-410.

Weinberg RA (1992): The retinoblastoma gene and gene product. Cancer Surv 12: 43-57.

Weisenburger DD, Kim H, Rappaport H (1982): Mantle zone lymphoma: a follicular variant of intermediate lymphocytic lymphoma. Cancer 49: 1429-1438.

Weisenburger DD, Sanger WG, Armitage JO, Purtilo DT (1987): Intermediate lymphocytic lymphoma: immunophenotypic and cytogenetic findings. *Blood* 69: 1617-1621.

Wienberg J, Stanyon R (1995): Chromosome painting in mammals as an approach to comparative genomics. *Curr Opin Genet Dev* 5: 792-797.

Wilgenbus KK, Milatovich A, Franke U, Furthmayr H (1993): Molecular cloning, cDNA sequence and chromosomal assignment of the human radixin gene and two dispersed pseudogenes. *Genomics* 16: 199-206.

Williams ME, Swerdlow S, Meeker TC (1993): Chromosome t(11;14)(q13;q32) breakpoints in centrocytic lymphoma are highly localized at the bcl-1 major translocation cluster. *Leukemia* 7: 1437-1440.

Willis TG, Dyer MJS (2000): The role of immunoglobulin translocations in the pathogenesis of B-cell malignancies. *Blood* 96: 808-822.

Withers DA, Harvey RC, Faust JB, Melnyk O, Carey K, Meeker TC (1991): Characterization of a candidate bcl-1 gene. *Mol Cell Biol* 11: 4846-4853.

Wlodarska I, Pittaluga S, Hagemeyer A, De Wolf-Peeters C, Van den Berghe H (1999): Secondary chromosome changes in mantle cell lymphoma. *Haematologica* 84: 594-599.

Woessner S, Lafuente R, Florensa L (1991): Síndromes linfoproliferativos crónicos B y T con expresión hemoperiférica. A: La citología óptica en el diagnóstico hematológico. *Medici, Barcelona*; 193-217.

Woessner S, Solé F, Perez-Losada A, Florensa L., Besses C, Sans-Sabrafen J (1994): The classical variant of chronic lymphocytic leukemia does not express trisomy 12. A preliminary study. *GEIL* 94. *Immunol. Leuk Lymph* 13 (suppl 1): 128.

Woessner S, Solé F, Pérez-Losada A, Florensa L, Vilà RM (1996): Trisomy 12 is a rare cytogenetic finding in typical chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia Res* 5: 369-374.

Woessner S, Florensa L (2000): Síndromes linfoproliferativos B y T. A: La citología óptica en el diagnóstico hematológico. Woessner S i Florensa L, 4ª ed., Acción Médica S.A. y Fundación Española de Hematología y Hemoterapia, Madrid: 431-523.

Wolf SF, Temple PA, Kobayashi M, Young D, Diczig M, Lowe L, Dzialo R, Fitz L, Ferenz C, Hewick RM, Kelleher K, Herrmann SH, Clark SC, Azzoni L, Chan SH, Trinchieri G, Perussia B (1991): Cloning cDNA for natural killer cell stimulatory factor, a heterodimeric cytokine with multiple biologic effects on T and natural killer cells. *J Immunol* 146: 3074-3081.

Wotherspoon AC, Finn TM, Isaacson PG (1995): Trisomy 3 in low-grade B-cell lymphomas of mucosa-associated lymphoid tissue. *Blood* 85: 2000-2004.

Yang WI, Zukerberg LR, Motokura T, Arnold A, Harris NL (1994): Cyclin D1 (Bcl-1, PRAD1) protein expression in low-grade B-cell lymphomas and reactive hyperplasia. *Am J Pathol* 145: 86-96.

Yatabe Y, Suzuki R, Tobinai K, Matsuno Y, Ichinohasama R, Okaoto M, Yamaguchi M, Tamaru J, Uike N, Morishima Y, Suchi T, Seto M, Nakamura S (2000): Significance of cyclin D1 overexpression for the diagnosis of mantle cell lymphoma: a clinicopathologic comparison of cyclin D1-positive MCL and cyclin D1-negative MCL-like B-cell lymphoma. *Blood* 95: 2253-2261.

Ye BH, Rao PH, Chaganti RSK, and Dalla-Favera R (1993): Cloning of bcl-6, the locus involved in chromosome translocations affecting band 3q27 in B-cell lymphoma. *Cancer Res* 53: 2732-2735.

Yuille MR, Houlston RS, Catovsky D (1998): Anticipation in familial chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 12: 1696-1698.

Zech L, Mellstedt (1988): Chromosome 13: a new marker for B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Hereditas* 108: 77-84.

Zoldan MC, Inghirami G, Masuda Y, Vandekerckhove F, Raphael B, Amorosi E, Hymes K, Frizzera G (1996): Large-cell variants of mantle cell lymphoma: cytologic characteristics and p53 anomalies may predict a poor outcome. *Br J Haematol* 93, 475-486.

Zhu D, Oscier DG, Stevenson FK (1995): Splenic lymphoma with vilous lymphocytes involves B-cells with extensively mutated Ig heavy chain variable region genes. *Blood* 85: 1603-1607.

Zukerberg LR, Medeiros LJ, Ferry JA, Harris NL (1993): Diffuse low-grade B-cell lymphomas. Four clinical distinct subtypes defined by a combination of morphologic and immunophenotypic features. *Am J Clin Pathol* 100: 373-385.

Zukerberg LR, Yang WI, Arnold A, Harris NL (1995): Cyclin D1 expression in non-Hodgkin's lymphomas: detection by immunohistochemistry. *Am J Clin Pathol* 103: 756-760.