

PARTICIPACION DE LOS SITIOS FRAGILES EN CANCER

ARIELA FUNDIA, IRENE LARRIPA

Departamento de Genética, Instituto de Investigaciones Hematológicas, Academia Nacional de Medicina, Buenos Aires

Resumen La mayor parte de las neoplasias hematológicas y tumores sólidos presentan anomalías cromosómicas específicas, numéricas o estructurales, que podrían originarse debido a la existencia de ciertas zonas lábiles en el genoma, denominadas *sitios frágiles* (SF). Estos sitios se pueden definir como puntos específicos de los cromosomas con mayor susceptibilidad a rupturas y reordenamientos cromosómicos en las células somáticas llevando a la activación de oncogenes o a la inactivación de genes supresores de tumor o antioncogenes, iniciando los primeros pasos del proceso oncogénico. En este trabajo se explica la clasificación y los mecanismos de inducción y se discute el significado biológico de estos sitios, principalmente su vinculación con el cáncer.

Palabras clave: sitios frágiles, cromosomas, agentes inductores, alteraciones cromosómicas estructurales, cáncer

El cáncer puede ser definido como una serie progresiva de eventos genéticos que ocurren en un único clon de células debido a alteraciones en genes específicos. Se ha demostrado que un gran número de neoplasias hematológicas y de tumores sólidos presentan anomalías cromosómicas específicas que involucran preferencialmente un número restringido de cromosomas, regiones y bandas¹⁻⁶. Varios grupos han sugerido que debe existir una relación causal entre estas alteraciones y la existencia de zonas lábiles en el genoma, denominadas sitios frágiles (SF)⁷⁻¹⁰. Estos sitios podrían predisponer a rupturas y reordenamientos cromosómicos en las células somáticas llevando a la activación de oncogenes o a la inactivación de genes supresores de tumor, relacionándose de este modo con la patogénesis del desarrollo neoplásico.

Los SF pueden definirse como puntos de ruptura cromosómica preferenciales que podrían es-

tar involucrados en la formación de reordenamientos cromosómicos de novo. Algunos SF se expresan espontáneamente en condiciones normales de cultivo y otros necesitan cultivos altamente específicos. La apariencia citológica es muy variable, se visualizan como gaps o discontinuidades en cromátides y cromosomas. Usualmente en buenos preparados estas discontinuidades tienen a lo largo una cadena visible de material. En algunas metafases, el cromosoma se rompe en el SF dando lugar a cromosomas delecionados, fragmentos acéntricos o figuras trirradiales^{11, 12}. En la actualidad se conoce la naturaleza molecular de 5 SF: FRAXA, FRAXF, y FRA16A. Estos sitios consisten en secuencias de ADN heredables e inestables y constan de un número variable de copias repetidas de p (CCG)_n, adyacente a una isla de CpG que puede ser hipermetilada¹³.

Clasificación

Los SF se dividen en 2 clases principales: raros (r-fra) o comunes (c-fra), según sus frecuencias de expresión en el hombre^{11, 14, 15}. Ambas clases pueden dividirse en varios grupos de acuer-

Recibido: 13-IX-1995

Aceptado: 17-VII-1996

Dirección postal: Dr. Ariela F. Fundia, Instituto de Investigaciones Hematológicas, Academia Nacional de Medicina, Pacheco de Melo 3081, 1425 Buenos Aires, Argentina

TABLA 1.— Clasificación de los sitios frágiles

Sitios frágiles	Grupo	Nº de SF
Raros	Sensibles al folato	18
	Inducibles por distamicina A	5
	Que requieren BUDR	2
	No clasificados	1
	Subtotal	26
Comunes	Inducibles por afidicolina	75
	Inducibles por 5-azacitidina	4
	Inducibles por BUDR	7
	No clasificados	1
	Subtotal	87
Total		113

Basado en Sutherland y Ledbetter (1989)¹⁶.

do a las condiciones de cultivo empleadas para la inducción^{11, 12, 14-16} (Tabla 1). Los SF raros se detectan en pocos individuos en un alto porcentaje de sus células y se heredan en forma mendeliana simple; en tanto que los comunes están presentes en baja frecuencia en todos los individuos de la población y pueden ser causados por factores ambientales^{17, 18}.

Esta clasificación no tiene en cuenta el hecho de que algunos SF raros son polimorfismos de frecuencia intermedia^{19, 20}, tal como el fra 16q22 presente en 1/20 individuos de la población alemana²¹ y el fra 10q25 que se expresa en 1/40 australianos²². También se encontraron algunos SF comunes como los SF: 2q31, 3p14, 6q26, 7q32, 16q23 y Xp22 que se expresan con mayor frecuencia que otros c-fra¹⁴. Estos hallazgos sugieren que ciertos SF muestran un amplio rango de frecuencias variando desde muy raro a muy común¹⁹.

Mecanismos de inducción

Los SF raros sensibles al folato se inducen mediante 4 mecanismos diferentes: 1) en condiciones de stress de timidilato, empleando un medio de cultivo deficiente en ácido fólico y timidina; 2) con inhibidores del metabolismo del folato como metotrexato, aminopterina o trimetopterina; 3) con inhibidores de la timidilato sintetasa como

fluorodeoxiuracilo (FUDR), fluorodeoxicitidina (FCDR) o trifluorotimidina (F₃Thy); 4) con altas concentraciones de timidina¹².

El metotrexato, aminopterina y trimetopterina son inhibidores de la dihidrofolato reductasa mientras que el FUDR, FCDR y F₃Thy inhiben la timidilato sintetasa (TS), produciendo una inhibición de la transformación de dUMP a dTMP. Altos niveles de timidina llevan a un aumento de la timidina trifosfato (dTTP) que inhibe la ribonucleótido reductasa encargada de la conversión de citidina difosfato en deoxicitidina trifosfato (dCTP). Por lo tanto, los SF sensibles al folato se expresan si hay bajos niveles de dCTP o dTTP durante la síntesis del ADN, por lo cual se sugirió que estos SF consiste en una secuencia de polipurina/polipirimidina susceptible de ser amplificada.

Los SF raros inducibles por distamicina A, Netropsina o Hoescht se manifiestan debido a que los inductores se unen externamente a zonas del ADN ricas en A-T, produciendo cambios conformacionales que bloquean la actividad de enzimas dependientes del ADN como ADN y ARN polimerasas, endonucleasas de restricción o DNAsas.

Los SF raros que requieren BUDR se expresan porque este análogo estructural de la timidina es incorporado al ADN en su lugar y produce errores de apareamiento durante la replicación, despiralización y rupturas cromosómicas¹¹.

Entre los inductores de la mayoría de los SF comunes, la afidicolina actúa inhibiendo la ADN polimerasa α y produce una inhibición parcial de la replicación del ADN en zonas específicas, tales como los SF^{11, 23}. La cafeína, otro agente empleado para estudiar c-fra, potencia la inducción producida por FUDR o metotrexato. Actúa inhibiendo la reparación del ADN después de la replicación²⁴. Los mecanismos de inducción de la 5-azacitidina y 5-azadeoxicitidina se basan en que son análogos de la citosina y son incorporados en su lugar al ADN durante la replicación²⁵⁻²⁷.

Hemos demostrado que los mecanismos implicados en la inducción de los distintos grupos de SF están relacionados al encontrar que FUDR y BUDR comparten la inducción de los SF 4q31, 5q15, 6p22, 7p13, 13q21 y 14q24²⁸. También hemos establecido que agentes químicos y físicos pueden potenciar la inducción de SF. Se observó un aumento significativo en el número de SF inducidos con rayos X o con una combinación de FUDR y rayos X, respecto de los cultivos contro-

les no irradiados, sugiriendo que los SF pueden ser inducidos por factores ambientales²⁹, tal como se propuso previamente¹⁷.

Rol biológico de los SF

El único SF con significancia clínica establecida es el SF raro FRAXA, localizado en la banda Xq27.3 comúnmente denominado como X-frágil. Este SF está asociado con la forma familiar más común de retardo mental con problemas de comportamiento y anomalías fenotípicas características, conocida como síndrome del X-frágil^{11, 30, 31}. Aún no se conoce el rol de los restantes SF. Se ha sugerido que posiblemente están relacionados con la oncogénesis^{1, 7-10}, el origen de rearrreglos constitucionales^{32, 33} y la evolución cromosómica de las especies³⁴⁻³⁷.

Diversos autores encontraron una alta coincidencia entre la localización cromosómica de muchos SF, raros y comunes, con los puntos de ruptura de reordenamientos cromosómicos específicos de neoplasias hematológicas y tumores sólidos^{8, 17, 18, 38, 39}. Incluso se demostró estadísticamente que la mayoría de las bandas que contienen SF están involucradas en alteraciones estructurales específicas de enfermedades malignas^{9, 40-42}. Por su parte, Yunis estableció que la ubicación de SF coincide con alteraciones cromosómicas asociadas a cáncer y con sitios donde mapean varios oncogenes^{43, 44} (Tabla 2).

Recientemente se ha identificado un antioncogen, denominado FHIT, localizado en uno de los SF más comunes, el FRA3B (3p14.2). Este gen se pierde parcial o completamente en varios tumores tales como colon, mama y pulmón. Este hallazgo sería la primera evidencia de que un gen supresor de tumor puede ser fácilmente alterado debido a su localización en un SF⁶³.

A fin de analizar el posible rol de los SF en el proceso carcinogénico, en nuestro laboratorio hemos estudiado la expresión de estas zonas en individuos sanos, en pacientes con neoplasias adquiridas y con síndromes de inestabilidad cromosómica, los cuales tienen una alta predisposición a desarrollar cáncer.

En pacientes con desórdenes linfoproliferativos hemos encontrado 6 SF nuevos, localizados en 1p11, 2q23, 4q33, 14q22, 15q24, 19p12, los cuales no se observaron en los individuos controles.

TABLA 2.— Asociación entre SF, oncogenes, alteraciones cromosómicas y neoplasias

SF	Oncogen	Anom. cromos	Neoplasia
1p36	fgr	del 1p31-36 t(1; 3) t(1; 17)	Neuroblastoma SMD, LNLA LNLA
1p32	Lmyc	t(1; 11)	LLA
1q21	ski	t(1; 19) t(1; 14)	LLA pre B Linfoma de Hodgkin
8q22	mos	t(8; 21)	LNLA
8q24	myc	t(8; 14)	Linfoma de Burkitt
9q34	abl	t(9; 22)	LMC
11q13	bcl 1	t(11; 14)	Linf. a cel. peq.
11q23	ets 1	t(9; 11) t(11; 11)	LMoA LLA
14q24	fos	t(6; 14)	Carcinoma ovárico
17q21	erb A1 neu	t(1; 17) t(3; 17)	LNLA SMP
18q21	bcl 2	t(14; 18)	Linfoma Folicular

SMD: Síndrome mielodisplásico; LNLA: Leucemia no linfoblástica aguda; LLA: Leucemia linfocítica aguda; LMoA: Leucemia mielomonocítica aguda; SMP: síndrome mieloproliferativo.

Tres de estos SF coinciden con los puntos de ruptura implicados en anomalías cromosómicas estructurales asociadas a esta patología, sugiriendo que los sitios nuevos pueden ser zonas críticas relacionadas con el desarrollo de desórdenes linfoproliferativos⁴⁵. Por otro lado, en neoplasias mieloides (datos no publicados) hemos identificado 2SF: 5q15 y 12q24, propios de pacientes con síndromes mielodisplásicos (SMD) y 11 SF específicos de LMA, ausentes en los controles. La mayoría de estos sitios corresponden a SF confirmados por el HGM 11⁴⁶ y coinciden con puntos de ruptura implicados en rearrreglos específicos de SMD y LMA^{5, 47}, sugiriendo que la expresión de ciertos SF podrían originar las alteraciones estructurales asociadas a estas neoplasias.

En el estudio de SF en pacientes con síndromes de inestabilidad cromosómica hemos inducido la expresión de 59 SF comunes en una familia con síndrome de Bloom, encontrando que la frecuencia de expresión del fra 5q31 estaba significativamente elevada respecto de los indivi-

TABLA 3.— *Pacientes neoplásicos con anomalías cromosómicas y sitios frágiles en el tejido normal*

Neoplasia (N° Pac.)	Anomalía cromosómica en tej. tumoral	SF	Referencia
Linf. a cél. peq.(2)	t(11; 14) (q13; q32)	11q13	1
Linf. maligno(1)	t(12; 14) (q13; q32)	12q13	1
Mielofibrosis y MM(1)	del (11) (q13-q21)	11q13	49
LMOA-M ₄ (17)	t, inv o del crom 16	16q22	1, 17, 50
Sarcoma de Ewing(1)	t(11; 22) (q23; q11)	11q23.3	51
Neuroblastoma(1)	del (1) (p32)	1p32	52
LNLA M ₄ (2)	t(7; 11) (p13; p15)	11p15.1	53
LNLA-M ₂ (1)	t(8; 21)	8q22	54
LLA(1)	dup (1) (q21→q44)	1q44	55

MM: metaplasia mieloide; LMOA-M₄: leucemia mielomonocítica aguda, tipo M₄; LNLA: leucemia no linfoblástica aguda; Linf. folic. cél. peq.: linfoma folicular de células pequeñas; LLA: leucemia linfoblástica aguda.

duos sanos ($p < 0,005$). Este hallazgo resultó bastante significativo ya que uno de los pacientes desarrolló un SMD que evolucionó a una leucemia aguda. Además, se ha propuesto que la rotura en la banda 5q31 parece ser el reordenamiento específico en SMD y LMA y que varios genes importantes en la hematopoyesis mapean en la región 5q22-q34, sugiriendo que el daño a uno o más de estos genes podría contribuir al desarrollo de estos desórdenes⁴⁹. Por otra parte, en pacientes con anemia de Fanconi (datos no publicados) hemos encontrado 7 SF específicos, ausentes en los controles y hemos establecido que el 75% de estos sitios coincidían con puntos de ruptura asociados a LMA, patología a la que más frecuentemente evolucionan los pacientes con AF, explicando de este modo la alta incidencia de leucemia.

Por otro lado, se describieron varios pacientes con cáncer portadores de anomalías cromosómicas específicas en el tejido neoplásico, en los cuales se evaluó la expresión de SF en sangre periférica, identificando SF en bandas coincidentes con los puntos de ruptura de dichas alteraciones (Tabla 3). La asociación más frecuentemente observada es con el fra 16q22 en LMOA-M₄. Además, se ha encontrado que las frecuencias de expresión de los SF inducidos en pacientes con leucemias y linfomas⁵⁶⁻⁵⁹ y tumores sólidos como cáncer de mama, melanomas cutáneos y

neuroblastoma⁶⁰⁻⁶² estaban incrementadas respecto de los individuos normales.

A modo de conclusión se puede decir que hasta ahora no se ha establecido con exactitud el rol de los SF en el origen del cáncer. Se considera que los SF iniciarían los primeros eventos de la carcinogénesis y que la secuencia de eventos podría ser: transmisión de un SF, ruptura en el SF, reordenamiento cromosómico, activación de un oncogen o pérdida de un antioncogen, llevando hacia la transformación maligna.

Agradecimientos

Este trabajo se llevó a cabo gracias a la ayuda de Academia Nacional de Medicina, CONICET y Laboratorios Rontag S.A. Queremos agradecer el valioso trabajo técnico de la Sra. Ana Burgos de Gómez y del Sr. Jorge Austin.

Summary

Fragile sites and cancer

Structural and numerical chromosomal abnormalities are frequent findings in neoplastic cells. The origin of structural rearrangements is probably due to the existence of specific labile areas on human chromosomes. These areas, named fragile sites (FS), are prone to chromosomal breakage

and rearrangements, playing an important role in the first steps of carcinogenesis. The classification of FS, the mechanisms involved in FS induction and their biological significance, specially their relationship with cancer development, are discussed.

Bibliografía

1. Yunis JJ. The chromosomal basis of human neoplasia. *Science* 1983; 221: 227-36.
2. Rowley JD. Biological implications of consistent chromosome rearrangements in leukemia and lymphoma. *Cancer Res* 1984; 44: 3159-68.
3. Heim S, Mitelman F. *Cancer Cytogenetics*. New York: Alan R. Liss, 1987.
4. Mitelman F. *Catalog of chromosome aberrations in cancer*, 3rd. Edition. New York: Alan R Liss, 1988.
5. Mitelman F., Kaneko Y., Trent J. Report of the committee on chromosome changes in neoplasia. Human Gene Mapping 11. *Cytogenet Cell Genet* 1991; 58: 1053-79.
6. Sandberg A.A. Chromosome abnormalities in human cancer and leukemia. *Mutation Res* 1991; 247: 231-40.
7. Hecht F., Glover T.W. Cancer chromosome breakpoints and common fragile sites induced by aphidicolin. *Cancer Genet Cytogenet* 1984; 13: 185-8.
8. Hetch F., Hecht B.K. Autosomal fragile sites and cancer, *Am J Hum Genet* 1984; 36: 718-20.
9. Hecht F, Sutherland GR. Fragile sites and cancer breakpoints. *Cancer Genet Cytogenet* 1984; 12: 179-81.
10. Le Beau MM. Chromosomal fragile sites and cancer specific breakpoints. A moderating viewpoint. *Cancer Genet Cytogenet* 1988; 31: 55-62.
11. Sutherland GR, Hecht F. *Fragile sites on human chromosomes*. New York: Oxford University Press, 1985.
12. Sutherland GR. Chromosomal fragile sites. *GATA* 1991; 8: 161-6.
13. Sutherland GR, Yu S, Baker E, et al. Molecular genetics of fragile sites. *Braz J Genet* 1996; 19 (Suppl 2): 55.
14. Glover TW, Coyle-Morris J, Morgan R. Fragile sites: overview, occurrence in acute nonlymphocytic leukemia, and effects of caffeine on expression. *Cancer Genet Cytogenet* 1986; 19: 141-50.
15. Berger R, Bloomfield CD, Sutherland GR. Report of the committee on chromosome rearrangements in neoplasia and on fragile sites. Human gene mapping 8: Eight international workshop on human gene mapping. *Cytogenet Cell Genet* 1985; 40: 490-535.
16. Sutherland GR, Ledbetter DH. Report of the committee on cytogenetic markers. Human Gene Mapping 10: Ten international workshop on human gene mapping. *Cytogenet Cell Genet* 1989; 51: 452-8.
17. Le Beau MM. Chromosomal fragile sites and cancer specific rearrangements. *Blood* 1986; 67: 849-58.
18. Fundia AF, Mudry de Pargament M. Sitios frágiles y neoplasias humanas. *Acta Bioq Clín Latinoamer* 1987; 21: 461-6.
19. Hecht F. Rare polymorphic and common fragile sites: a classification. *Hum Genet* 1986; 74: 207-8.
20. Hecht F., Ramesh KH, Lockwood DH. A guide to fragile sites on human chromosomes. *Cancer Genet Cytogenet* 1990; 44: 37-45.
21. Schmid M, Fiechtner W, Jebberger A, et al. The fragile site(16) (q22). I. Induction by AT-specific DNA-ligands and population frequency. *Hum Genet* 1986; 74: 67-73.
22. Sutherland GR. Hereditary fragile sites on human chromosomes. XI. Population cytogenetics and segregation analysis of the BrdU-requiring fragile site at 10q25. *Am J Hum Genet* 1982; 34: 753-6.
23. Glover TW, Berger C, Coyle J, Echo B. DNA polymerase α inhibition by aphidicolin induces gaps and breaks at common fragile sites in human chromosomes. *Hum Genet* 1984; 67: 136-42.
24. Kihlman BA, Sturelid S, Hartley-Asp B, Nilsson K. Caffeine potentiation of the chromosome damage produced in bean root tips and Chinese hamster cells by various chemical and physical agents. *Mutation Res* 1973; 17: 271-5.
25. Viegas-Péquignot E, Dutrillaux B. Segmentation of human chromosomes induced by 5-ACR (5-azacytidine). *Hum Genet* 1976; 34: 247-54.
26. Jones PA, Taylor SM. Cellular differentiation, cytidine analogs and DNA methylation. *Cell* 1980; 20: 85-93.
27. Jones PA, Taylor SM. Hemimethylated duplex DNAs prepared from 5-azacytidine-treated cells. *Nucleic Acid Res* 1981; 9: 2933-47.
28. Fundia AF, Larripa IB. Coincidence in fragile site expression with fluorodeoxyuridine and bromodeoxyuridine. *Cancer Genet Cytogenet* 1989; 41: 41-8.
29. Fundia AF, Larripa IB. Inducción de sitios frágiles por agentes químicos y físicos. *APPTLA* 1991; 41: 359-67.
30. Nussbaum RL, Ledbetter DH. Fragile X Syndrome: a unique mutation in man. *Ann Rev Genet* 1986; 20: 109-45.
31. Davies KE (ed). *The Fragile X Syndrome*. Oxford: Oxford University Press, 1989.
32. Hecht F, Hecht BK. Fragile sites and chromosome breakpoints in constitutional rearrangements. I. Amniocentesis. *Clin Genet* 1984; 26: 169-73.
33. Hecht F, Hecht BK. Fragile sites and chromosome breakpoints in constitutional rearrangements. II. Spontaneous abortions, stillbirths and newborns. *Clin Genet* 1984; 26: 174-7.
34. Guichaoua M, Mattei MG, Mattei JF, Girand F. Aspects génétiques des sites fragiles autosomiques. A propos de 40 cas. *J Génét Hum* 1982; 30: 183-97.
35. Jottrand Bellomo M. Les sites fragiles autosomiques. *J Génét Hum* 1984; 32: 155-66.
36. Miró R, Clemente IC, Fuster C, Egozcue J. Fragile sites, chromosome evolution and human neoplasia. *Hum Genet* 1987; 75: 345-69.
37. Clemente IC, García M, Ponsá M, Egozcue J. High-resolution chromosome banding studies in *Cebus*

- apella*, *Cebus albifrons* and *Lagothrix lagothricha*: comparisson with the human karyotype. *Am J Primatol* 1987; 13: 23-6.
38. Le Beau MM, Rowley JD. Hereditary fragile sites in cancer. *Nature* 1984; 308: 607-8.
 39. Yunis JJ. Fragile sites and predisposition to leukemia and lymphoma. *Cancer Genet Cytogenet* 1984; 12: 85-8.
 40. De Brackeleer M, Smith B, Lin CC. Fragile sites and structural rearrangements in cancer. *Hum Genet* 1985; 69: 112-6.
 41. De Brackeleer M. Fragile sites and chromosomal structural rearrangements in human leukemia and cancer. *Anticancer* 1987; 7: 417-22.
 42. Wenger SL. Relationship between fragile sites and cancer breakpoints. *Cancer Genet Cytogenet* 1992; 61: 213.
 43. Yunis JJ, Soreng L. Constitutive fragile sites and cancer. *Science* 1984; 226: 1199-204.
 44. Yunis JJ, Soreng AL, Bowe AE. Fragile sites are targets of diverse mutagens and carcinogens. *Oncogene* 1987; 1: 59-69.
 45. Fundia AF, Slavutsky IR, Larripa IB. Expresión de sitios frágiles nuevos detectados en pacientes con procesos linfoproliferativos. *Sangre* 1990; 35: 4-9.
 46. Human Gene Mapping 11. The catalog of mapped genes and report of the nomenclature committee. *Cytogenet Cell Genet* 1991; 58: 5-102.
 47. Trent JM, Kaneko Y, Mitelman F. Report of the Committee on structural chromosome changes in neoplasia. Human Gene Mapping10: Tenth International Workshop on Human Gene Mapping. *Cytogenet Cell Genet* 1989; 51: 533-62.
 48. Fundia AF, Gorla NB, Bonduel MM, et al. Increased expression of 5q31 fragile site in a Bloom syndrome family. *Human Genet* 1992; 89: 569-72.
 49. Sessarego M, Ajmar F, Ravazzolo R, et al. Coincidence between fragile site expression and interstitial deletion of chromosome 11 in a case of myelofibrosis. *Human Genet* 1983; 68: 299-301.
 50. Murata M, Takahashi E, Ishihara T, et al. Heritable fragile sites and cancer: fra (16) (q22) in lymphocytes of an acute non lymphocytic leukemia patient with inv(16) (p13q22). *Cancer Genet Cytogenet* 1987; 25: 81-6.
 51. Gollin SM, Perrot LJ, Gray BA, Kletzel M. Spontaneous expression of fra(11) (q23) in a patients with Ewing's sarcoma and t (11; 22) (q23; q11). *Cancer Genet Cytogenet* 1986; 20: 331-9.
 52. Vernole P, Concato C, Pianca C, et al. Association of cytogenetic abnormalities in a neuroblastoma and fragile sites expression. *Br J Cancer* 1988; 58: 287-91.
 53. Takahashi E, Kaneko Y, Ishihara T, et al. A new rare diatamycin A- inducible fragile site, fra (11) (p15.1), found in two acute nonlymphocytic leukemia (ANLL) patients with t (7; 11) (p15-p13; p15). *Human Genet* 1988; 80: 124-6.
 54. Furuya T, Ochi H, Watanabe S. Expression of fragile site 8q22 in peripheral blood lymphocytes taken from patients with acute leukemia M2 having t (8; 21) (q22; q22). *Jpn J Clin Oncol* 1989; 19: 23-5.
 55. Ribeiro RC, Douglass EC, Williams DL, et al. Relationship between chemical induced fragile sites and chromosomal breakpoints in malignant cells in children. *Leuk Lymph* 1992; 7: 401-7.
 56. Furuya T, Ochi H, Watanabe S. Common fragile sites in chromosomes of bone marrow cells and peripheral blood lymphocytes from healthy persons and leukemia patients. *Cancer Genet Cytogenet*, 1989; 43: 131-8.
 57. Wang YL, Tang ZZ, Hu N, Wang XQ. Observations of fragile sites in patients with lymphoma and leukemia. *Chin Med J* 1990; 103: 565-71.
 58. Moormeier JA, Neilly ME, Vardiman JW, et al. Familial lymphoproliferative disorders with chromosomal fragile site analysis. *Leuk Lymph* 1991; 5: 311-6.
 59. Chary-Reddy S, Prasad VS, Ahuja YR. Expression of common fragile sites in untreated non-Hodgkin's lymphoma with aphidicolin and folate deficiency. *Cancer* 1994; 86: 111-7.
 60. Vernole P, Tedeschi B, Caporossi D, Nicoletti B. Common fragile sites and human cancer. A study on lymphocytes from neuroblastoma patients. *Cancer Genet Cytogenet* 1988; 36: 13-23.
 61. Sokova OI, Kirichenko OP, Mukeria AF, et al. Enhanced expression of 1p32 and 1p22 fragile sites in lymphocytes in cutaneous malignant melanomas. *Cancer Genet Cytogenet* 1992; 58: 24-8.
 62. Ardisia C, Venti G, Colozza MA, et al. Expression of aphidicolin-induced fragile sites in lymphocytes of patients with breast cancer. *Cancer Genet Cytogenet* 1993; 67: 113-6.
 63. Pennisi E. New gene forges link between fragile sites and many cancers. *Science* 1996; 272: 649-55.