

**MALİGN HASTALIKLARDA KEMİK
İLİĞİNDE SİTOGENETİK ÇALIŞMALAR :**
Özgün Kromozomal Bozuklukların Tanısal ve Prognostik Değeri

Gönül Oğur**

Chantal De Busscher*

Alina Ferster*

Esther Vamos*

Modern kanser sitogenetiğinin verilerine göre, tümör hücrelerindeki kromozomal değişiklikler genom boyunca dengesiz olarak dağılmış durumdadırlar. Farklı neoplazmlarda farklı kromozomlar, farklı kırılma bölgeleri ve farklı bantlar etkilenmektedir (3,4,11,14,15). Neoplaziler içinde özgün karyotipik değişiklikler açısından en iyi incelenen grup, lösemilerdir. Halen varolan materyalin % 87 sini hematolojik bozukluklar, kalan % 13 ünü ise solid tümörler oluşturmaktadır (9).

Özgün kromozomal değişiklikler, malign hematolojik bozukluğu olduğu düşünülen hastalarda tanı koydurucu, prognozu tayin edici ve tedaviye yanıtı önceden saptayıcı nitelikte olabilmektedir. Bugün artık pek çok gelişmiş kanser araştırma merkezinde, özellikle lösemilerde, hastalığın tanı evresinde, remisyon ve rölapsın değerlendirilmesinde sitogenetik inceleme yapılmaksızın kesin yorumlara gidilmektedir (4,6,7,9).

Klinik öneminin yanısıra kromozom çalışmaları, malign olayların biyolojik özelliklerinin anlaşılmasında da yararlı bilgiler sağlar. Son çalışmalar «onkogen»lerin, kromozomların kırılma noktalarına lokalize olduğunu göstermektedir (1,4,11,14,17). Kromozomlarda kırılmalar sonucu ortaya çıkan yeni yapılar, kırılma noktalarına lokalize bu genlerin regülasyonunu etkilemekte, fonksiyonunun değişmesine yol açmakta, böylece neoplastik transformasyonun oluşmasında önemli rol oynamaktadır.

* U.L.B. Hopital Universitaire Brugmann et Hopital Universitaire Des Enfants
Reine Fabiola, Bruxelles

** İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü, Kanser Genetiği Bilim Dalı,
Çapa-İstanbul

Lösemide kromozomal değişikliklerle ilgili uluslararası son toplarılar, özgün anomaliler ile birlikte olan bir seri hematolojik hastalığı belirlemiştir (Tablo - I). Araştırmacıların olduğu kadar, klinik hematolog ve onkologların da, bu grup içinde, hiç olmazsa en sık görülen değişikliklerden haberdar olmaları gereklidir. Sitogenetikçiler ise daha güvenilir sonuç verebilmek açısından bu verileri iyi izlemek durumundadırlar (9).

Tablo I : ANLL FAB Alt Gruplarında Kromozom Anomalileri

FAB	Sitogenetik Bozukluk	Sıklık
M1	—7	17
	+8	13
	del (5q)	10
	—5	9
	t (9; 22)	9
M2	t (8; 21)	38
	—7	11
	+8	11
M3	del (5q)	9
	t (15; 17)	92
M4	inv, del, t (16)	26
	+8	15
	—7	11
M5	del, t (11q)	30
	+8	26
M6 a	—7	26
	+8	14
	del (5q)	14
	—5	11

Çalışmamızda 12 lösemi, iki nöroblastoma, bir akciğer kanseri tanısı alan ve beş lösemi ve beş myelodisplastik sendrom şüphesi olan toplam 25 olguda, kemik iliğinden «direkt yöntem» ve «yüksek rezolüsyon» yöntemi ile kromozom analizleri gerçekleştirilmiş ve sonuçları değerlendirilmiştir. Benzer çalışmaların son derece ender olduğu ülkemizde, bu çalışma ile, lösemilerde özgün kromozomal bozuklukların tanısall ve prognostik değerinin, klinisyenler ve sitogenetik uzmanlarınca benimsenmesi ve ilgili laboratuvar tekniklerinin rutinleşmesine yardımcı olabilmek amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOD

Çalışma, Brüksel Özgürlük Üniversitesi (U.L.B.), Brugmann Üniversitesi Hastanesi Sitogenetik Laboratuvarına, kemik iliği kromozom analizi için gönderilen 25 olgu üzerinde yürütülmüştür. 22 sini malign hematolojik bozukluğun oluşturduğu bu grupta, 3 solid tümör olgusu da, kemik iliği tutulumu düşünüldüğü için çalışmaya alınmıştır. Olguların tanıları, olgu sayısı ve uygulanan kromozom yöntemleri Tablo - II de gösterilmiştir.

KROMOZOM ÇALIŞMALARI

Toplam 25 olgudan 19 unda «direkt yöntem» (DY) uygulanmış, ancak 4 ünde 2 kez kemik iliği materyali gönderildiğinden, DY, toplam 23 materyalde yürütülmüştür. 24 olguda ise «Yüksek resolüsyon» (YR) yöntemi uygulanmış, 2 olguda kemik iliği aspirasyonu iki kez alındığından, yöntem toplam 26 materyalde uygulanmıştır (Tablo - II).

Tablo II : 25 Olguda Hastalıkların Gruplandırılması ve Uygulanan Kromozom Yöntemleri

Tanı	Olgu Sayısı	Direkt Yön.	Yüksek Res.	Sonuçlanan
ALL	8	7	8	8
AML	1	1	1	1
KLL	1	1	1	1
KML	1	1	1	1
KMMOL	1	—	1	1
MDS	5	4	4	3
ALL	5	2	5	7
NEURO.	2	2	2	2
AKC. KA.	1	1	1	1
Toplam	25 (30) ^M	19 (23) ^M	24 (26) ^M	23

M : Materyal, ALL : Akut Lenfoblastik Lösemi, AML : Akut Myeloid Lösemi, KLL : Kronik Lenfositik Lösemi, KML : Kronik Myeloid Lösemi, KMMOL : Kronik Myelomonositer Lösemi, MDS : Myelodisplastik Sendrom, NEURO. : Nöroblastoma, AKC. KA. : Akciğer Kanseri.

Direkt Yöntem : Direkt yöntem kromozom preparatları, daha önce rapor edildiği biçimde taze aspire edilmiş kemik iliği materyali, yaklaşık yarım saat «colcemid» ile muamele edilerek elde edildi (9,12,13). Her olgu için en az 3 preparat hazırlandı.

Yüksek Rezolüsyon Yöntemi : Taze aspire edilmiş ve 5 ml. RPMI 1640 a alınmış, 0.5 ml. heparinize kemik iliği aspirasyon materyali, bir kez RPMI 1640 da yıkandı, 1200 - 1500 rpm de 10 dk. santrifüje edildi ve 5 ml. RPMI 1640 (% 10 Fetal Calf Serum, % 1 Penisilin-Streptomisin ve % 1 L-Glutamin) eklenerek 2-3 saat 37 derecede inkübe edildi. Bu süre sonunda hücrelere 10^{-7} M final konsantrasyon «methotrexate» eklendi ve 17 saat etüvde beklemeye bırakıldı. 17 saat sonra hücreler bir kez RPMI 1640 da yıkanarak 5-7 saat süre ile, 10^{-5} M final konsantrasyon «thymidine» ile muamele edildi. Bu süre sonunda ortama $0.02 \mu\text{g/ml}$. «colcemid» eklenerek, hücreler, 15-30 dk. 37 derecede inkübe edildi. Bu noktadan itibaren kromozom preparatları, lenfosit kültürlerinde olduğu biçimde hazırlanarak «trypsin-giems» bantlama yöntemi ile boyandı (8,12,13,18).

BULGULAR

Yöntemlerle ilgili bulgular : incelenen 25 olgudan 5 inde 2 şer kez analiz gerçekleştirildiğinden tüm çalışmada direkt yöntem ve/veya yüksek rezolüsyon yöntemi ile toplam 30 materyal incelendi. DİREKT YÖNTEM'in uygulandığı 23 materyalden (19 olgu) 4 ünde hiç metafaz elde edilemedi. Bu 4 materyalden 2 si aynı olguya ait idi ve aplastik krizde olan bir MDS ön tanısı olgusu idi. Sonuç alınamayan diğer 2 materyalde ise YR yöntemi de uygulandığından, olgularda karyotip tayini açısından sorun çıkmadı. 23 materyalde direkt yöntemin başarı oranı % 82.60 (19/23), aplastik kriz olgusu dışlandığında ise % 90.47 (19/21) idi. Çalışılan 19 olguda, olgu başına 14 metafaz incelenebilmişti.

YÜKSEK RESOLÜSYON Yöntemi, 30 materyalden 26 sına (24 olgu) uygulanabildi; bunların 5 inde hiç metafaz elde edilemedi. Sonuç alınamayan 5 materyalden 2 si kemik iliğinde aplasi gösteren, MDS ön tanısı alan 2 olguya ait idi. 3 materyalde ise YR sonuç vermediği halde DY ile karyotip elde edilebilmişti. 26 materyalde kromozom elde etme açısından başarı oranı % 80.76 (21/26), 2 aplasi olgusu dışlandığında ise % 87.50 (21/24) idi. İncelenen 24 olguda, olgu başına ortalama 16 metafaz incelenebilmişti. Her iki yöntem birlikte değerlendirildiğinde, 25 olgunun 2 sinde ne DY ne de YR sonuç vermedi; ancak her iki olguda da aplasi nedeni ile yeterli kemik iliği materyali elde edilememişti. Böylece kemik iliği aspire edilebilen 23 olgudan 23 ünde de (% 100) uygulanan yöntemlerden her ikisi veya en az biri ile sonuç elde edildi (Tablo III).

Tablo III : Kromozom Elde Edebilme ve Metafaz Oranı Açısından Yöntemlerin Karşılaştırılması

Yöntem	Kromozom Elde Etme Oranı	Metafaz Sayısı (Ortalama)	Bant Kalitesi
DY	% 90.47	14	++
YR	% 87.50	16	+++
GENEL KROMOZOM ELDE ETME ORANI	Kemik İliği Aspire Edile-bilenlerde % 100, Tüm Olgularda % 92 (23/25)		

Lösemik karyotiplerle ilgili bulgular : Tablo IV de farklı hastalık gruplarında elde edilen karyotip sonuçları özetlenmiştir. 12 lösemi olgusundan remisyonda olan 5 olguda karyotipler normal sonuçlanmış, relaps veya ilk tanı nedeni ile incelenen 7 olgudan 3 ünde ise anormal karyotipik bulgular elde edilmiştir (% 42.85). 2 nöroblastoma olgusunun kemik iliğinde normal karyotip belirlenirken, lösemi şüphesi olan 5 olgudan 2 sinde anormal karyotipler gözlenmiş, 1 oat-cell akciğer kanserinde ise kemik iliğinde incelenebilen 24 metafazdan 22 si anormal sonuçlanmıştır (Tablo IV).

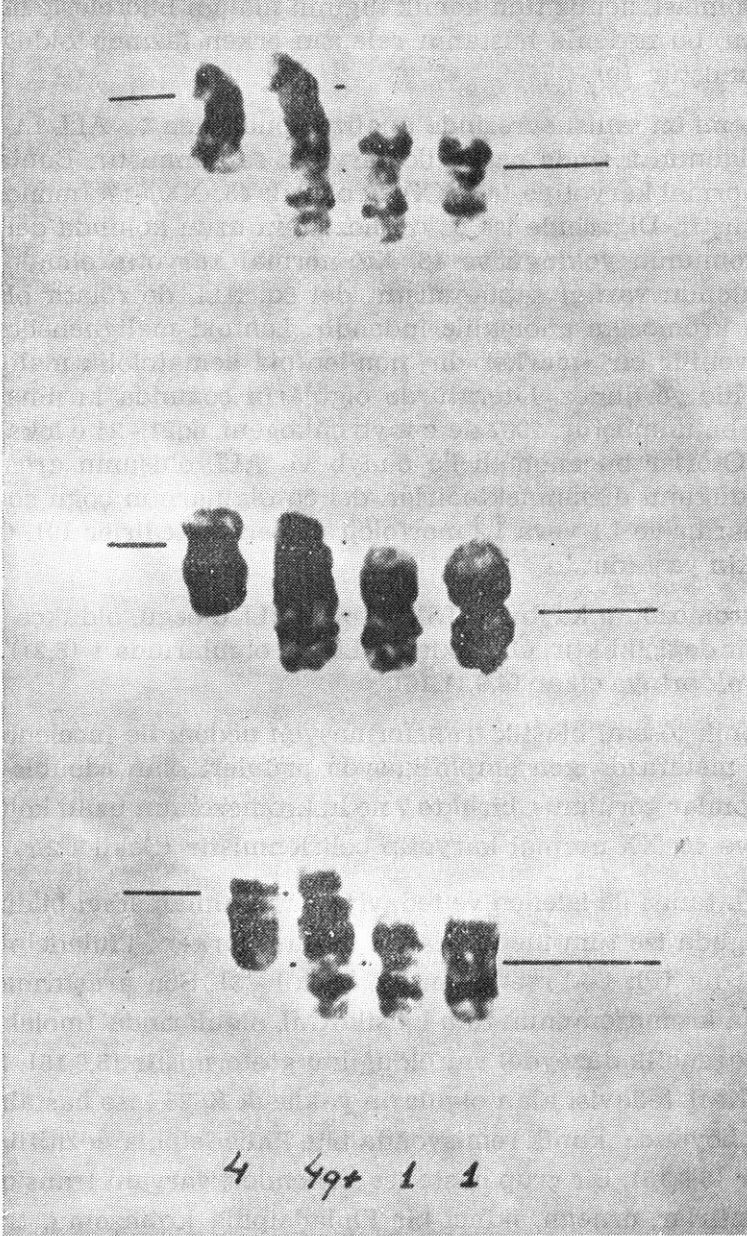
TARTIŞMA

Lösemik kemik iliği kromozom çalışmaları ile ilgilenenler için en önemli sorun, yeterli sayıda, iyi kalitede ve iyi bant almış kromozom elde etmenin güçlüğüdür. Bu güçlükler, lösemik karyotiplerde var olan bozuklukların ve yeni yapıların kimi zaman gözden kaçmasına neden olmakta, bu da doğal olarak sonuçların sağlıklı değerlendirilmesini engellemektedir. Böylece ilgili literatürde benzer konularda farklı yorumlar ortaya çıkmaktadır. Bu sorunları en aza indirgemenin bir yolu, farklı teknikleri birarada kullanarak lösemik karyotiplendirmeye gitmektir (8,9,12,13,18,19). Olgularımızın karyotiplerinin tayini açısından, direkt yöntem ve yüksek resolüsyon yönteminin birarada kullanılması, % 100 e varan bir kromozom üreme elde etmemizi sağlamakla kalmamış, ayrıca yeterli sayıda ve iyi kalitede metafaz inceleyebilmemize de olanak vermiştir.

Tablo IV : 25 Olgunun Kemik İliği Kromozom Analiz Sonuçları

Neoplasinin Türü	Toplam Olgu	Sonuç Alınan Olgu	Kromozom Anomalisi Olan	KARYOTİP
ALL L1	8	8	1	46, XX, t (9; 4) (p34; q33) / 46, XX (Şekil - 1)
AML	1	1	—	
KLL	1	1	—	
KML	1	1	1	46, XX, t (9; 22) (q34; q12) (Şekil - 3 A ve B)
KMMOL	1	1	1	46, XX, del 7q21/46, XX «Double-Minute» + (Şekil - 2)
MDS	5	3	2	a. 46, XX, t (9; 10) (p23; q23) b. 45, X, —Y (Şekil - 4)
ALL	5	5	2	a. 46, XX/45, XX, —17 b. 46, XY, 6q—/45, X, —Y/46, XY
NEURO.	2	2	—	
AKC. CA	1	1	1	51, XY, +1, —4, +8, +der 14, +16 +18, +20, +21, —22, +M, 17p—
Toplam	25	23	8	

Olgularımızın büyük grubunu, 8 olgu ile ALL ler oluşturmuştur. Tümü L 1 morfoloji gösteren olguların 5 ine kemik iliği kromozom analizi remisyonda iken yapılmış, karyotipler normal olarak sonuçlanmıştır. 2 olgu relaps fazında incelenmiş, biri normal sonuçlanırken, iki yıldan sonra ilk kez relaps gösteren diğer olguda, 1. kromozomun kısa kolu ile 4. kromozomun uzun kolu arasında resiprokal bir translokasyon saptanmıştır (Şekil - 1). Aynı hastada normal klonların da sap-



Şekil 1 : Bir ALL L1 olgusunda, relaps fazında, kemik iliği kromozom analizinin sonucu. 46, XX, -4, der 4 (t (1p; 4q)) (parsiel karyotip)

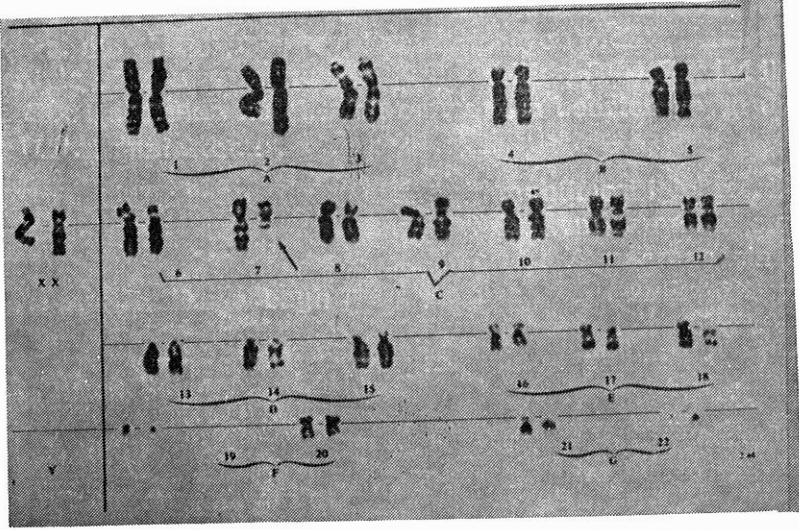
tanmış olması, henüz tüm kemik iliğinin malign hücrelerle infiltre olmadığını, bu nedenle hastanın relapsın erken fazında olduğunu düşündürmüştür (9).

Lösemi ön tanısı evresinde analize gönderilen ve ALL L1 düşünülen 5 olgunun 2 sinde patolojik karyotip saptanmıştır. Bunlardan ilkinde normal karyotipe (46, XX) ek olarak 45, XX, -17 (monosomi 17) gözlenmiştir. Diğerinde ise 6. kromozomun uzun kolunda delesyon, Y kromozomunun yokluğu ve 46, XY normal karyotip olmak üzere 3 farklı klonun varlığı saptanmıştır. del 6q, ALL de rölatif olarak sık görülen kromozom anomalilerindendir. Lenfoid malignensiler açısından güvenilir bir «marker»dır; non-lenfoid hematolojik malignenside hemen hiç görülmez. Literatürde olguların çoğunda kırılma noktası 6q21 de bulunmuştur. 1987 de c-myb onkogeni, 6q21 - 24 e lokalize edilmiştir. Otörler bu anomali ile c-myb ve ALL oluşumu arasında bir ilişki olduğunu düşünmektedirler. del 6q olgularının çoğu çocuk yaşta olgulardır ve L1 veya L2 morfoloji göstermektedirler (9). Olgumuz ise erişkin yaştaadır.

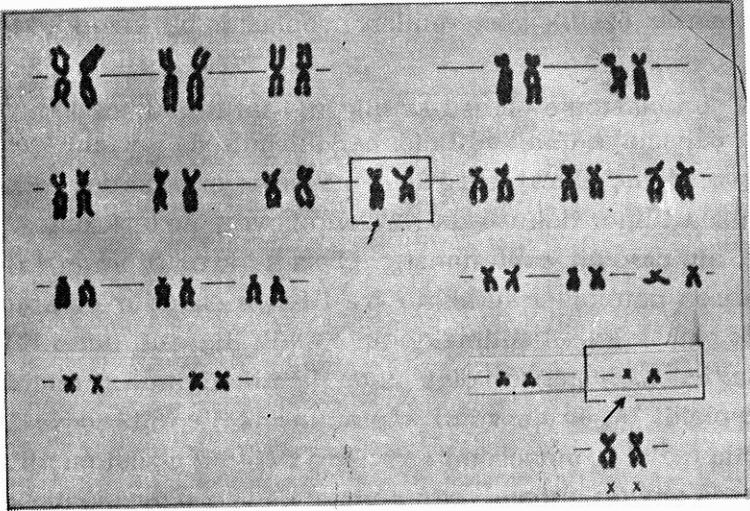
Y kromozomu kaybı, ALL'den çok ANLL'e özgü, oldukça sık rastlanan bir değişikliktir. Özellikle ANLL M2 olgularında t (8;21)'e sekonder olarak ortaya çıkar (4,9,11,16).

Kronik lösemi blastik transformasyon nedeni ile incelenen bir olguda, 1 metafazda gen amplifikasyon ürünleri olan «double-minute» kromozomlar görülmüş, birlikte 7 no lu kromozomun uzun kolunda delesyon ve 46, XX normal karyotip belirlenmiştir (Şekil - 2).

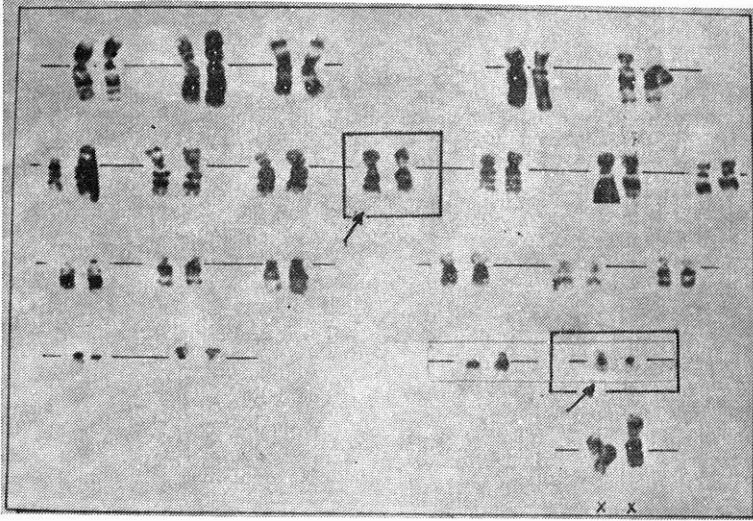
KML tanısı ile izlenen ve tedaviye yanıt alınmadığı bildirilen bir diğer olguda ise tüm metafazlarda özgün marker «Philadelphia Kromozomu»na (Ph 1+) rastlanmıştır. (Şekil - 3). Son araştırmalar Philadelphia kromozomunun tüm klasik KML olgularında (moleküler ve/veya sitogenetik düzeyde) var olduğunu göstermiştir (5,9,15). Konvansiyonel KML tedavisi alan olguların yaklaşık % 25 i ise hastalığın tüm evreleri boyunca ,klinik remisyonda bile Philadelphia pozitifliğini sürdürürler (5,9,15). Bir grup hasta ise, sekonder, varyant translokasyonlar yansıtır; örneğn, ikinci bir Philadelphia kromozomu, trisomi 8, trisomi 19 veya i (17q) gibi (5,9,15). Olgumuzda tüm metafazlarda Philadelphia pozitifliğinin gösterilmiş olması kötü prognoz işareti ve tedaviye dirençliliğin kanıtlarıdır.



Şekil 2 : Bir KMMOL olgusunda 7. kromozomun uzun kolunda delesyon (kemik iliği). 46, XX, del 7q21



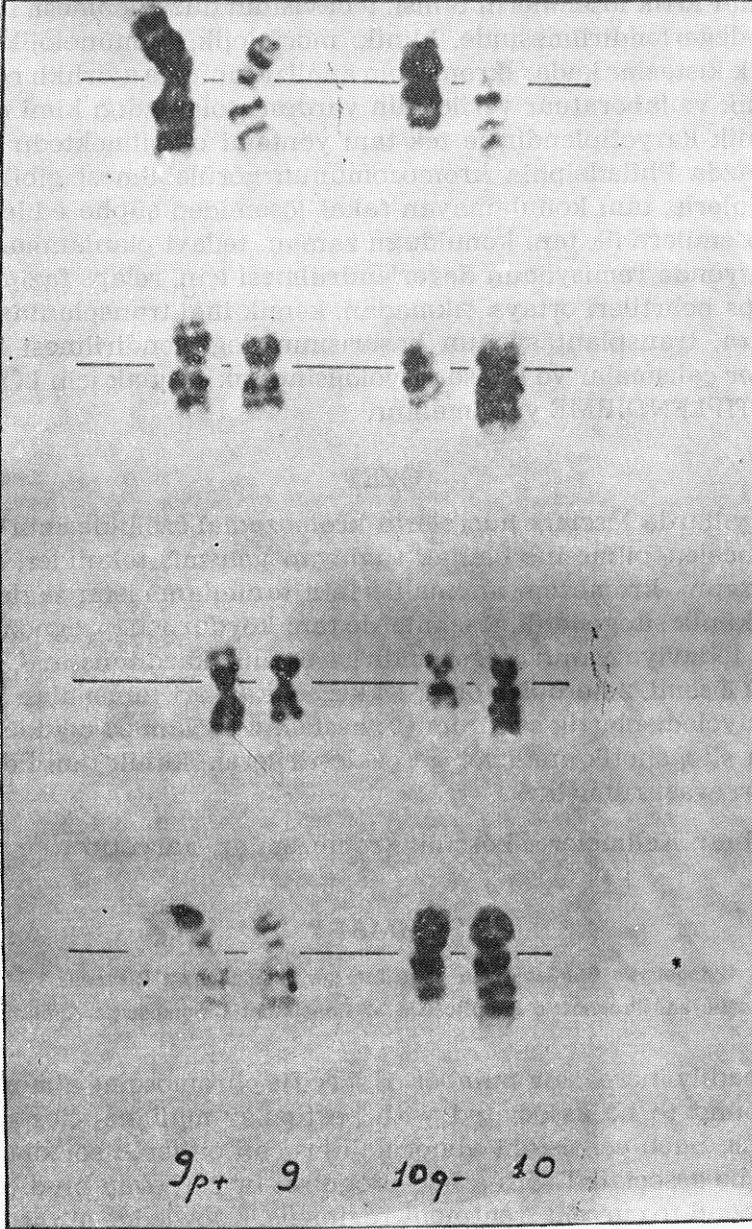
Şekil 3 A



Şekil 3 : Bir KML olgusunda Philadelphia Kromozomu (kemik iliği).
46, XX, t(9; 22) (q34; q12) (A : Giemsa-Boyama, B : GTG-Bantlama)

Literatürde Myelodisplastik Sendromlardaki kromozomal değişiklikler, olguların yaklaşık 1/3 ini ilgilendirmekte ve sıklıkla ANLL türünde olmaktadır. Çalışmamızda 5 MDS olgusundan 2 sinde patoloji saptanmıştır (Şekil - 4) (Tablo - IV). Her iki sonuç da daha çok ANLL türünde kromozom anomalileridir. Bilindiği gibi MDS, ANLL lere oldukça benzer özellik gösterebilen neoplastik bir bozukluktur (4,9,10, 11).

İki nöroblastoma olgusu kemik iliği tutulumu söz konusu olduğu için bu çalışmaya dahil edilmiş, her ikisinde de normal karyotip saptanmıştır. İlginç olarak evre IV-S nöroblastoma kabul edilen 4 aylık olgumuzda tümör dokusu da incelenmiş ve 1 no.lu kromozomun kısa koluna ait patoloji saptanmıştır. Oysa 1. kromozomun kısa kolunu ilgilendiren patolojiler sıklıkla evre III-IV'e özgüdür ve kötü prognoz belirtisi olarak kabul edilmektedir. Kemik iliği tutulumu bildirilen 60 yaşındaki akciğer kanseri olgusunda, kemik iliğinde 22 metafazda psödohiperploidi (51 kromozom) saptanmış ve 1,8,16,18,20 ve 21. kromozomlarda fazlalık, monosomi 4 ve 22 ve t(14;14) gözlenmiştir. Tüm metafazlarda yaygın anomali saptanması kötü prognoz kriteri olarak yorumlanmıştır.



Şekil 4 : Bir MDS olgusunda t (9; 10) (p23; q23) Parsiyel Karyotip (Kemik iliği)

SONUÇ

Bugün artık lösemilerin tanısı, tedavisinin düzenlenmesi, tedaviye yanıtın değerlendirilmesinde, klinik, morfolojik, immünolojik ve hematolojik kıstaslar kadar, kromozom analizlerinin de ağırlıklı rolü vardır. Klinik ve laboratuvar verilerinin yardımcı olamadığı kimi olgularda lösemik karyotiplendirme tek tanı yöntemi olabilmektedir (Prelösemik fazda Philadelphia kromozomunun görülebilmesi gibi) (5,15). Bu nedenlerle, tanı konulamayan fakat lösemiden şüphe edilen olgularda, lösemilere ilk tanı konulduğu zaman, tedavi planlanmadan önce, remisyonda remisyonun değerlendirilmesi için, relaps fazında, klinik relaps belirtileri ortaya çıkmadan, kemik iliği transplantasyonundan sonra, transplantasyonun başarısının değerlendirilmesi için ve moleküler çalışmalar ve kanser etyolojisine ışık tutmak için LÖSEMİK KARYOTİPLENDİRME yapılmalıdır.

ÖZET

Son yıllarda lösemik hücrelerin kromozomal özelliklerinin detaylı olarak incelenebilmesine olanak sağlayan gelişmiş teknikler, lösemilerde «özgün» kromozom anomalilerinin tanımlanmasını sağlamıştır. Böylece klinik sitogenetik, lösemilerde tanı koydurucu, prognozu tayin edici ve tedaviye yanıtı değerlendirici özellik kazanmıştır. Çalışmamızda 12 lösemi, 2 nöroblastoma, 1 akciğer kanseri tanısı alan ve 5 lösemi, 5 myelodisplastik sendrom şüphesi olan toplam 25 olguda kemik iliğinden sitogenetik analizler gerçekleştirilerek, klinik tanı ile korelasyonları araştırılmıştır.

Anahtar Kelimeler : Lösemi, kromozomlar, karyotip

SUMMARY

**Cytogenetic Studies From Bone Marrow In Malignant Diseases :
Diagnostic and Prognostic Significance of Consistent Chromosome Aberrations**

A steadily increasing number of specific chromosome abnormalities are found to be associated with particular malignancies or their subgroups. Such consistent abnormalities can either be of diagnostic value or be associated with a bad prognosis or can even predict failure to respond to current treatment regimens. Knowledge of these chromosome abnormalities is also fundamental to an understanding of the genetic changes in malignancy.

In this study cytogenetic analysis was performed from bone marrow cells of 12 cases of acute or chronic leukemia, two cases of neuroblastoma and a case of oat-cell lung cancer. Five cases with a suspicion of myelodysplastic syndrome were also included in the study. Cytogenetic results of these 25 cases are discussed with regard to clinical significance and technical approaches.

Key Words : Leukemia, chromosomes karyotyping

KAYNAKLAR

1. Berger R : Molecular Cytogenetics of Acute Lymphoblastic Leukemia. *Nouvelle Revue Française d'hématologie-J. Exper. Clin. Hema.* pp. 86-91, 1991.
2. Bernstein R : Cytogenetics of Chronic Myelogenous Leukemia. *Seminars in Hematology.* 25 : 20-34, 1988.
3. De Braekeleer M : Abbarrant Breakpoints in Chronic Myelogenous Leukemia; oncogenes and fragile sites. *Hum. Genet.* 78 : 199, 1988.
4. Dewald GW : Chromosome Abnormalities in Malignant Hematologic Disorders. *Mayo Clin. Proc.* 60 : 675-689, 1985.
5. Dube ID Carter RF Pinkerton PH : Chromosome Abnormalities in Chronic Myeloid Leukemia. *Tumor Biology Vol II, Suppl. I* pp. 3-24, 1990.
6. Fletcher JA Kimball VM Lynch E Donnelly M Pavelka K Gelber RD Trantravahi R and Sallon SE : Prognostic Implications of Cytogenetic Studies in an Intensively Treated Group of Children with Acute Lymphoblastic Leukemia. *Blood* 74 : 2130-2135, 1989.
7. Fonatsch C : Cytogenetic Markers in Hematoproliferative Disorders. *Blut* 51 : 315-328, 1985.
8. Hegemeijer A Smit EME and Bootsma D : Improved Identification of Chromosomes of Leukemic Cells in Methotrexate-Treated Cultures. *Cytogenet Cell Genet.* 23 : 208-212, 1979.
9. Heim S and Mitelman F : *Cancer Cytogenetics.* Alan R Liss. Inc., New York, 1989.
10. Jotterand-Bellamo M Parlier V Schmidt PM and Beris Ph : Cytogenetic Analysis of 54 cases of Myelodysplastic Syndrome. *Cancer Genet. Cytogenet.* 48 : 157-172, 1990.

11. Look TA ; The Cytogenetics of Childhood Leukemia : Clinical and Biological Implications. In Poplack, D. G. (Gue. Ed.) : The Leukemias. The Pediatric Clinics of North America. W.B. Saunders Company. Harcourt Brace Jovanick, Inc. pp. 723, 1988.
12. Morris CM and Fitzgerald PH : An Evaluation of High Resolution Chromosome Banding of Hematologic Cells by Methotrexate Synchronization and Thymidine Release. *Cancer Genet. Cytogenet.* 14 : 275-284, 1985.
13. Uğur G Ayan I Anak S Ridolfi F Vamos E : Malign Hematolojik Hastalıklarda Kemik İliği Kromozom Analizlerinin Teknik Yönleri. *Türk Onkoloji Dergisi* (Baskıda, 1992).
14. Pearson M and Rowley JD : The Relation of Oncogenesis and Cytogenetics in Leukemia and Lymphoma. *Ann. Rev. Med.* 36 : 471-483, 1985.
15. Pinkerton PH and Dube ID : Chronic Myeloid Leukemia as a Paradigm for Oncogenesis. *Diagn. Oncol.* 1 : 288-297, 1991.
16. Rowley JD : Recurring Chromosome Abnormalities in Leukemia and Lmyphome. *Seminars in Hematology.* 27 : 122-136, 1990.
17. Secker-Walker LM : Prognostic and Biological Importance of Chromosome Findings in Acute Lymphoblastic Leukemia. *Cancer Genet. Cytogenet.* 49 : 1-13, 1990.
18. Yunis JJ : Comparative Analysis of High-Resolution Chromosome Techniques for Leukemic Bone Marrows. *Cancer Genet. Cytogenet.* 7 : 43-50, 1982.
19. Webber LM and Garson OM : Flourodeoxyuridine Synchronization of Bone Marrow Cultures. *Cancer Genet. Cytogenet.* 8 : 123-132, 1983.