

## AKUT LÖSEMİLERDE İMMUNFENOTİPLENDİRME

Orhan Seyfi Şardaş\*  
Osman İlhan\*\*\*

Hamdi Akan\*\*  
Günhan Gürman\*\*\*

Meral Beksaç\*\*  
Aynur Güneyli\*\*\*\*

Haluk Koç\*\*

Akut lösemilerin sınıflandırılmasında lösemik hücrelerin köken aldığı ana hücre ve bu hücreden farklı serilere yönlendirilmiş hücreler temel unsurdur. Bu hücrelerin morfolojilerinden ve sitokimyasal özelliklerinden yararlanılarak sınıflandırma yapılabilir. Bu ayırmada standardizasyonu sağlamak amacı ile FAB sınıflandırma sistemi geliştirilmiştir (3). Akut lösemilerde sınıflandırma yapmak o lösemi tipinin doğal seyrini, tedavi seçimini ve tedaviye yanıtı belirlemede önemli bir faktördür. Ancak morfolojik incelemeler ve kullanılan tüm sitokimyasal boyalara rağmen akut löseminin tipini ve alt gruplarını belirlemek her zaman mümkün olmayabilir. Geliştirilen monoklonal antikor teknolojisi ile normal ve lösemik hücreler üzerinde yer alan ve o hücrelere özgü antijenler işaretlenmekte ve bu hücrelerin gerek floresan mikroskop gerekse flow cytometre ile incelenmesi ile o lösemnin, köken aldığı ana hücreye göre sınıflandırılması ve altgruplarının belirlenebilmesi mümkün olabilmektedir (6,10). Bu yöntemle yapılan immunfenotiplendirme özellikle Akut lenfoblastik lösemi ve Akut myeloblastik lösemnin daha özgül altgruplarının tanımlanmasında hatta her iki seriye ait bifenotipik ve karışık seri lösemilerin gösterilebilmesine yol açmıştır. Bu sonuçlar prognoz açısından önem taşımaktadır. FAB sınıflandırılması ile immunfenotiplendirme sonuçları arasında ilişki bulunmakla birlikte, bu konuda standardizasyonu sağlama çalışmaları devam etmektedir (1,7,9,13,15,14).

Bu çalışmamızda bilim dalmızda Akut Lösemi ve Kronik Myelositler Lösemi Blastik Kriz olgularında yapılan immunfenotiplendirme sonuçlarını sunmaktayız.

\* A.Ü. Tıp Fakültesi İbn-i Sina Hastanesi Hematoloji - Onkoloji Bilim Dalı Başkanı.

\*\* A.Ü. Tıp Fakültesi, Hematoloji - Onkoloji Bilim Dalı Doçenti.

\*\*\* A.Ü. Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Uzmanı, Hematoloji - Onkoloji Bilim Dalı Araştırma Görevlisi.

\*\*\*\* A.Ü. Tıp Fakültesi, Hematoloji - Onkoloji Bilim Dalı Biyoloğu.

## MATERİYAL VE METOD

Bilim Dalımızda 1989 - 1990 yıllarında yatmış ve Akut Lösemi tanısı almış olan 35 olgu incelenmiştir. Olguların yaşları 14 ile 63 arasında değişmektedir. İlk inceleme Giemsa ile boyanan periferik yayma ve kemik iliği aspirasyonlarından yapılmıştır. Gereken olgularda PAS, peroksidaz, Sudan Black,  $\alpha$ -naftil asetat esteraz ve  $\alpha$ -kloroasetat esteraz boyaları, sitokimyasal incelemeler yapılmıştır. İmmunfenotiplendirme amacı ile kullanılan antikolar Tablo I'de sunulmuştur.

Tablo I : Akut Lösemilerin İmmunfenotiplendirilmesinde Kullanılan Antikolar

Antikor	CD	Antijenin Bulunduğu Hücreler
T1	CD5	Matur ve immatur T hücreleri, B-KLL
T3	CD3	Matur T membranında, immatur T sitoplazmasında
T11	CD2	Çok erken pre-T hariç tüm T hücrelerinde
T4	CD4	Helper/inducer T hücrelerinde
T8	CD8	Sitotoksik/supresör T hücresi
3A1	CD7	Erken T hücrelerinde, T-ALL
B1	CD20	Geç B hücrelerinde
B4	CD19	Çok erken B hücrelerinde
J5 (CALLA)	CD10	Erken B hücreleri (Common-ALL)
I2 (HLA-DR)		Plazma hücresi hariç tüm B hücreleri, aktif T hücresi, monosit, stem cell
NKH-1	CD56	Natural killer hücreler (LGL)
MY4/MO2	CD14	Monosit
MY7	CD13	Erken myeloid hücreler
MY8		
MY9	CD33	Erken myeloid hücreler
MO1	CD11b	Monosit, granülosit
PLT-1	CD41a	Trombosit ve megakaryositler
GP-A		Eritroid prekürsörleri
Leu-M1	CD15	Granülositler

İmmunfenotiplendirme için alınan kan örneklerinde periferik kanda blast oranının % 30 üzerinde olmasına dikkat edilmiştir. Periferik kanda blast oranı veya hücre sayısı düşük olan olgularda immunfenotiplendirme amacı ile kemik iliği mononükleer hücreleri dansite gradienti üzerinde yoğunlaştırılmıştır. Yöntem olarak indirekt immunfloresan yöntemi uygulanmıştır. İmmunfenotiplendirme Zeiss

floresan mikroskopu ile değerlendirilmiş olup floresans vermesi için **florescein isothiocyanate (FITC)** veya **Phycoeritrin** kullanılmıştır. Sayılan blastların % 20'sinden fazlası belirli bir antikor ile floresans veriyorsa o **antijen pozitif kabul edilmiştir** (11). Elde edilen sonuçlara göre Akut Myelositer Lösemiler FAB karşılıkları ile sınıflandırılmaya, Akut Lenfoblastik Lösemiler ise **Foon ve Tood** tarafından önerilen sınıflandırılmaya göre değerlendirilmeye çalışılmıştır (8) (Tablo II-III).

Tablo II : Non-T ALL'de Sınıflandırma (8)

Grup	ANTİJENLER					Sitoplazmik $\mu$	Membran Ig
	I2	B4	J5	B1			
I	+	—	—	—	—	—	—
II	+	+	—	—	—	—	—
III	+	+	+	—	—	—	—
IV	+	+	+	+	—	—	—
V	+	+	+	+	+	—	—
VI	+	+	+ / —	+	—	—	+

Tablo III : T-ALL'de Sınıflandırma (8)

Grup	ANTİJENLER						
	3A-1	T1	T11	T3	T4	T8	T6
I	+	+	+	—	—	—	—
II	+	+	+	+ / —	+	+	+
III	+	+	+	+	+ / —	+ / —	—

## SONUÇLAR

İmmunfenotiplendirme yapılan toplam **35 olgunun 13'ü ALL** (Tablo VI), **17'si ANNL** (Tablo V) olarak değerlendirilmiş, geri kalan 5 olgu ise her hangi bir gruba sokulamamış ve Akut indiferansiye Lösemi (AIL) olarak değerlendirilmiştir (Tablo VII).

ALL grubundaki 13 olgunun **7'si Non T-ALL**, **4'ü ise T-ALL** olarak değerlendirilmiştir. Diğer 2 olgunun bir tanesi hem B, hem de T işaretleyicilerine sahip olup, morfolojik görünümü ile **prolenfositik** lösemi olarak değerlendirilmiştir (Olgu 8). Aynı şekilde hem T hem B işaretleyicileri taşıyan diğer bir olgu ise çok yüksek oranda NKH-1 pozitifliği göstermiş ve periferdeki blastları Large Granüler Lenfositleri

Tablo IV : ANLL'de Hücre İşaretleyicileri (5)

Antikor	FAB					
	MO	M1	M2/M3	M4/M5	M6	M7
CD34	+	+	+/-	+/-	-	+/-
CD13 (MY7)	+	+	+	+	+	+
CD33 (MY9)	+/-	+	+	+	+/-	+
CD14 (MY4)	-	-	-	+	-	-
CD11b (MO1)	-	-	+	+/-	-	-
PLT-1	-	-	-	-	-	+
GP-A	-	-	-	-	+	-
TdT	+/-	+/-	-	-	-	-

Tablo V - Immunfenotiplendirme İle ANLL Tanısı Alan Olgularımız

	L1	L3	L11	L4	T8	T2	J5	B1	B4	NKH-1	MO1	MO2	MY7	MY8	MY9	PLT-1	GP-A
1 M1												+	-	+		+	
2 M4													+	+		+	
3 M2													-	+	-		-
4 M4	+												+	+	+	+	
5 M2												+	+	+		-	
6 M3													-	-		+	
7* M2							+						-	+		-	
8**BK							-	+					-	+		+	-
9 AL							+						-	+		+	-
10 AL	+						-	-	-	+		+	+	+		+	-
11 M5							-	-	-			+	+	+		+	-
12 M4							+					+	+	+		+	-
13 B1	+	+					-	+				+	+	+		+	-
14 M1							+						-	+	+	+	-
15 AL	+						-	-					-	+		+	
16**									+				-	+		+	
16 M4							-	+	+	+	+	+	+	+		+	
17****																	
17 M4							+						-	+	-	-	-
SONUC	3	3	0	0	0	6	3	1	3	2	5	7	13	3	13	0	
	9	10	7	8	8	13	10	5	11	8	6	15	17	6	17	9	

\* MY4 ve MO2 ortak CD (CD14)'ye sahip olmalarına rağmen bu iki olguda farklı sonuç vermiştir.

\*\* LeuM1 (CD15) pozitif

\*\*\* Kemik iliğinden çalışılmıştır

andıran bu olgu Natural Killer Hücreli Lösemi olarak değerlendirilmiştir. Bu olguların sınıflandırılması Foon ve Tood sınıflandırılmasına göre yapıldığında Non-T-ALL'de sınıflandırma kolay olurken, T-ALL'de daha güç olmuştur (8).

Buna göre Non T-ALL olgularının 1 tanesi grup II, 3 tanesi grup III ve 2 tanesi grup IV'tür. 1 olguda ise yalnız J5 (CALLA) pozitifliği yüksek oranda izlenmiştir. T-ALL'li 4 olgunun 2 tanesi grup I, 2 olgu ise grup II ve III olarak değerlendirilmiştir.

Tablo VI - İmmunfenotiplendirme İle ALL Tanısı Alan Olgularımız

	<u>T1</u>	<u>T2</u>	<u>LL1</u>	<u>T4</u>	<u>T8</u>	<u>I2</u>	<u>J5</u>	<u>B1</u>	<u>B4</u>	<u>NKH-1</u>	<u>3A1</u>
1	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
2	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
3	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
4	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-
5	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
6	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+
7	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
8	-	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-
9	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-
10	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+
11	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-
12	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-
13	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
<u>Oran</u>	<u>5</u>	<u>2</u>	<u>6</u>	<u>4</u>	<u>3</u>	<u>8</u>	<u>6</u>	<u>4</u>	<u>6</u>	<u>1</u>	<u>4</u>
	12	10	12	12	13	13	13	13	13	10	9

Tablo VII - İmmunfenotiplendirme İle Akut İndiferansiye Lösemi Tanısı Alan Olgularımız

	<u>T1</u>	<u>T2</u>	<u>LL1</u>	<u>T4</u>	<u>T8</u>	<u>I2</u>	<u>J5</u>	<u>B1</u>	<u>B4</u>	<u>NKH-1</u>	<u>M2</u>	<u>MY7</u>	<u>MY8</u>	<u>MY9</u>	<u>PLT-1</u>	<u>GP-A</u>	<u>3A1</u>
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Monoklonal antikorioların dağılımı gözden geçirilirse bazı özellikler dikkati çekmektedir. 3A1 (CD2) T-ALL'de pozitif iken Non T-ALL olgularında negatiftir. I2 (HLA-DR) pozitifliği ise Non T-ALL'de belirgindir. Bir olgumuzda ise NKH-1 (CD56) yüksek oranda pozitif çıkmıştır.

Tiplendirme yapılan 17 ANLL olgumuzun 2 tanesi (Olgu 8 ve 13) KML Blastik kriz (KML - BK) ile gelmişlerdir. Diğer, olgulardan 3 tanesine immuntiplendirme öncesi ayırım yapılamamıştır (Olgu 9, 10 ve 15). Diğer olgulardan 6 tanesi (Olgu 2,4,11,12,16,17) tiplendirme öncesi ANLL M4/5 tanısı almıştır. 1 olgu ANLL M3 (Olgu 6), 2 olgu ANLL M2 ve 3 olgu da ANLL M1 olarak sınıflandırılmıştır. İmmunfenotiplendirme sonunda bu olguların genel özelliklerine dikkat edilirse ANLL için en önemli işaretleyici'ler MY9 (CD33) ve MY7 (CD13)'tür. Erken myeloid hücreleri işaretleyen bu antikoriolar 17 olgunun 13'ünde (+) çıkarken, ikisi bir arada kullanıldığı zaman 1 olgu dışında (0-

gu 17) tüm olgularda pozitif sonuç vermektedirler. ANLL M3 olgusunda ise MY7 (CD13) negatif bulunmuştur. Monositer komponent düşünülen 6 olgunun hepsinde monositer seri işaretleyicisi olan MO2 (MY4) pozitiftir. Ancak dikkati çeken bir nokta ANLL M2 tanısı almış olan 7 no.lu olguda aynı CD'ye sahip (CD 14) iki antikordan MO2 negatif çıkarken MY4 pozitiftir. MO2 FAB'a göre sınıflandırılmayan bir olguda MY7 ve MY9 ile birlikte pozitif bulunmuştur. Olgu 8 (KML-BK) ve olgu 16 (ANLL M4)'da ayrıca Leu M1 (CD 15) pozitiftir.

ANLL grubunda myelomonositer işaretleyiciler dışında kalan diğer işaretleyicilerin dağılımı gözden geçirildiğinde en sık rastlanan antikoran I2 olduğu görülmektedir. Özellikle monositer komponenti olan olgularda I2 (HLA-DR) ekspresyonu belirgindir. T1 (CD5) ve T3 (CD3) en sık rastlanan işaretleyicilerdir (3/9 ve 3/10). B işaretleyicileri ise yine T işaretleyicilerine benzer oranlarda görülmüştür. Hiçbir olguda megakaryositer seri işaretleyicisi olan PLT-1 ve normoblastik seri işaretleyicisi olan GP-A pozitifliği görülmemiştir.

Beş olgu ise immunfenotiplendirme ile sınıflandırılmamıştır. Bu olgulardan 1 tanesi (Olgu 2) sitokimyasal boyalarla ANLL olarak değerlendirilmiş ancak tiplendirmede tüm işaretleyiciler negatif sonuç vermiştir. 3 no'lu olgu ise ALL olarak değerlendirilmiş ancak immunfenotiplendirme sırasında zayıf T11 pozitifliği dışında bulgu saptanamamıştır. Diğer 3 olgu ise gerek morfolojik, gerek sitokimyasal yöntemlerle hiçbir tipe sokulamamış, immunfenotiplendirme ile de sonuç alınamamıştır. Bu üç olgu Akut indifferansiye Lösemi olarak değerlendirilmiştir (15).

## TARTIŞMA

Bu çalışmada toplam 35 olguda immunfenotiplendirme yapılmıştır. Bu olgular önce morfolojik ve sitokimyasal olarak tiplendirilmiş ve ardından toplam 19 antikordan oluşan bir panelde değerlendirilmişlerdir. Bu panelde kullanılan antikordan B1 (CD20), B4 (CD19), J5 (CD10), I2 (HLA-DR) B lenfositleri, T3 (CD3), T11 (CD2), T4 (CD4), T8 (CD8) ve 3A1 (CD7) T lenfositleri, T1 ise T lenfositleri ve B-KLL

olgularını işaretlemekte kullanılmıştır. Myeloid seri işaretleyicisi olarak MY7 (CD13), MY8, MY9 (CD33), LeuM1 (CD15), monositer seri için ise MO2/MY4 (CD14) ve MO1 (CD11b) kullanılmıştır. ANLL M6 için GP-A, ANLL M7 için ise PLT-1 panele eklenmiştir. Natural Killer Hücreler için ise NKH-1 (CD56) kullanılmıştır. **Tüm bu işaretleyiciler gözden geçirildiğinde ALL'de kullanılan işaretleyiciler ile FAB sınıflandırılması arasında bir bağlantı kurulmasının olanaksız olduğu izlenmektedir. Ancak T ve B hücreleri lösemileri ayırt etmekte immunfenotiplendirme başarılı sonuçlar vermektedir** (8,9). Yine bu yöntemle konvansiyonel tekniklerle tanı konması güç olan Natural Killer Lösemi (CD 56 +) tanısı konabilmiştir. Bu olgumuzun önemli bir özelliği de çok refrakter bir olgu olup kısa sürede kaybedilmesidir. **ALL olgularımızda Foon ve Todd'un önerdiği sınıflandırma özellikle B-ALL olgularında kolaylıkla uygulanabilmiştir. Ancak bu sınıflandırmanın prognostik değeri henüz belli değildir** (8).

ANLL olgularında ise **FAB sınıflandırması ile immunfenotiplendirme** arasında ilişki ALL'ye göre daha belirgindir. ANLL olgularını değerlendirirken MY7 (CD13) ve MY9 (CD33) panele mutlaka konmalıdır (1,6,8,9,15). LeuM1 (CD15) pozitifliği ANLL de görülmekte ise de tanıda özel bir yeri yoktur (9). Bizim olgularımızda ANLL M1 ve M2'yi ayırt edecek işaretleyici yoktur. Ancak özellikle ANLL M4 ve ANLL M5 için MO2/MY4 (CD14) çok yararlı görülmektedir. MO1 de monosit ve granülositer seriyi işaretlemekte yardımcı olabilir (4). Daha önce belirtildiği gibi MY4 ve MO2 aynı CD'ye sahip olmakla beraber farklı sonuçlar verebilmektedirler. Bu olgu Campos ve ark. tarafından da doğrulanmıştır (4). Akut lösemi tanısı konup myeloperoksidaz ve nonspesifik esteraz negatif olan ve morfolojik olarak da sınıflandırılmayan 3 olgu immunfenotiplendirme ile ANLL olarak değerlendirilmiştir.

ANLL'de myelo-monositer işaretleyicilerin yanı sıra lenfosit işaretleyicilerinin varlığı daha önce çeşitli yayınlarda bildirilmiştir. Bu işaretleyicilerin varlığı çeşitli yollarla açıklanmaya çalışılmıştır. Bu iki lösemnin de ortak bir progenitörden oluştuğu ve myeloblastlar üzerinde I2, T4, T11 ve diğer T işaretleyicilerinin varlığının bu nedenle olduğu öne sürülmüşse de bunun niye tüm ANLL olguları için geçerli olmadığı açık değildir. Bu tip olgularda aynı ana hücreden gelişen 2 ayrı

ana hücreden gelişen 2 ayrı blastik klon söz konusu olabilir. Klonların biri lenfosit, diğeri ise myelositer işaretleyiciler taşımaktadır (Bi-lineage lösemi). Diğeri bir olasılık ise bir blast üzerinde hem lenfositler hem de myelositer işaretleyicilerin bulunmasıdır (Bifenotipik lösemi) (2,8,9,16). Ancak elimizde bu çalışmanın yapıldığı dönemde dual boyama olanakları olmadığı için bu ayırımı yapmak olanaksız olmuştur. Ayrıca periferik kanda o anda var olan normal lenfositler de bu sonuçlara katkıda bulunabilir. I2 antikörünün pozitifliği ANLL monositer komponenti olan olgularda doğaldır. I2'nin yalnız B lenfositler değil, aktif T lenfositler ve monositler üzerinde varlığı bildirilmiştir (8,9).

İncelenen olguların 5'inde hiçbir işaretleyici pozitif çıkmamıştır. Bunlardan ikisine sitokimya ile tanı konmuş, diğeri 3 olgunun Myeloperoksidaz, Sudan Black ve non-spesifik esteraz'ı da negatif olduğu için bu olgular Akut İndiferansiye Lösemi (M0) olarak tanımlanmışlardır (12).

Sonuç olarak immunfenotiplendirme çalışmaları Akut Lösemilerin tanısında çok değerli bir gelişme olmuştur. Son yıllarda lösemilerin sınıflandırılmasında yeni bir gelişme olarak kabul edilebilecek MIC (morfolojik, immun ve sitokimyasal) çalışma grubunun sonuçlarının tamamlanması ile immunfenotiplendirme de kesin sınırlar içerisinde değerlendirilebilecektir.

## ÖZET

Bu çalışmamızda bilim dalımızda izlenen 35 akut lösemi olgusunda immunfenotiplendirme ile lösemi sınıflandırılması sunulmuştur. Olgularımız immunfenotiplendirme sonucunda 13'ü ALL, 17'si ANLL ve 5 sınıflandırılmayan Akut Lösemi olarak değerlendirilmiştir. ALL olgularının 7'si Non-T ALL, 4'ü T-ALL, 1'i prolenfositik lösemi ve 1'i de Natural Killer lösemi olarak değerlendirilmiştir. ANLL olgularında ise özellikle monositer komponenti ayırdetmede immunfenotiplendirmenin belirgin yararı olduğu izlenmiştir. Konvansiyonel yöntemlerle sınıflandırma yapılamayan Akut Lösemi olgularında immunfenotiplendirme ile ayırım yapılabilmektedir.



## SUMMARY

### Immunophenotyping in Acute Leukemias

35 Acute Leukemia cases followed in our Department were classified by Immunophenotyping. The cases were classified as 13 ALL, 17 ANLL and 5 undifferentiated Acute Leukemia. Further classification revealed that ALL cases could be subdivided as 7 Non-T ALL, 4 T-ALL, 1 prolymphocytic leukemia and one Natural Killer leukemia. Immunophenotyping was clearly helpful in determining the monocytic component in ANLL. In Acute Leukemia cases where conventional methods failed to reveal any leukemia typing, immunophenotyping has been found to be successful.

## KAYNAKLAR

1. Ball ED Fouger WW : The expression of myeloid specific antigens on myeloid cells : Correlations with leukemia subclasses and implications for normal myeloid differentiation. *Blood* 61 : 456-463, 1983.
2. Ben-Bassat I Gale RP : Hybrid acute leukemia. *Leukemia Res* 8 : 919-936, 1984.
3. Bennett JM Catovsky D Daniel MT et al : Proposals for the classification of acute leukemias. French-American-British (FAB) Cooperative Group. *Br J Haematol* 33 : 451-458, 1976.
4. Campos L Guyotat D Archimbaud E et al : Surface marker expression in adult acute myeloid leukemia : correlations with initial characteristics, morphology and response to therapy. *Br J Haematol* 72 : 161-166, 1989.
5. Catovsky D : The classification of AML. Diploma in Haematology, course notes 1988-1989.
6. Chan LC Pegram SM Graeves MF : Contribution of immunophenotype to the classification of acute leukemia. *Lancet* 1 : 475, 1985.
7. First MIC : Cooperative Study Group. Morphologic, immunologic and cytogenetic (MIC) working classification in acute lymphoblastic leukemias. *Cancer Genet Cytogenet* 23 : 189-197, 1986.
8. Foon KA Todd RF : Immunologic classification of Leukemia and Lymphoma. *Blood* 68(1) : 1-31, 1986.
9. Kaplan SS Panchansky L Stolc V et al : Immunophenotyping in the classification of acute leukemia in adults. *Cancer* 63 : 1510-1527, 1989.
10. Köhler G Nobel Lecture : Derivation and diversification of monoclonal antibodies. *Bioscience Report* 5 : 535-549, 1985.

11. Matutes E : Cell markers in diagnostic haematology. Immunocytochemistry. Modern methods and applications. 2nd Edn (ed by JM Polak and S Van Noorden) pp 599-617. Wright Bristol 1986.
12. Matutes E Oliveira MSP Foroni LF et al : The role of ultrastructural cytochemistry and monoclonal antibodies in clarifying the nature of undifferentiated cells in acute leukemia. Br J Haematol 69 : 205-211, 1988.
13. Neame PB Soamboonsrup P Bowman GP et al : Classifying acute leukemia by immunophenotyping. A combined FAB-immunologic classification of AML. Blood 68 : 1355-1362, 1986.
14. Oliveira MSP Gregory C Matutes E et al : Cytochemical profile of megakaryoblastic leukemia : a study with cytochemical methods, monoclonal antibodies and ultrastructural cytochemistry. J Clin Pathol 40 : 663-669, 1987.
15. Second MIC : Cooperative Study Group. Morphologic, Immunologic and cytogenetic (MIC) working classification in Acute myeloid leukemias. Br J Haematol 68 : 487-494, 1988.
16. Smith LJ Curtis JE Messner HA et al : Lineage infidelity in acute leukemia. Blood 61 : 1138-1145, 1983.